

УДК 616.34+616.3-056.3-053.31-08

**Т.К. Знаменская,
Т.В. Коломийченко**

(г. Киев, Украина)

ЭФФЕКТИВНОСТЬ СЕЛЕКТИВНЫХ ПРОБИОТИКОВ В ЛЕЧЕНИИ НОВОРОЖДЕННЫХ С ДИСБИОЗОМ КИШЕЧНИКА И АЛЛЕРГИЧЕСКИМИ РЕАКЦИЯМИ

Ключевые слова: новорожденные, дисбиоз, аллергия, герпесвирусная инфекция, лечение, пробиотик LACTOMUN™

Резюме. Представлены результаты исследования по применению пробиотика Лактомун™ Эколоджик ПАНДА у новорожденных с дисбиозом и проявлениями аллергических реакций от матерей с герпес-вирусной инфекцией. Доказана его высокая эффективность, о чем свидетельствует улучшение клинического состояния новорожденных (нормализация стула, устранение срыгивания, колики, метеоризма, кожных аллергических проявлений); показателей микробиоценоза; показателей клеточного и неспецифического иммунитета (фагоцитарная функция, активность комплемента, провоспалительные цитокины ИЛ-6 и ИЛ-8).

ВВЕДЕНИЕ

Проблема микроэкологии кишечника в последние годы привлекает внимание неонатологов. Влияние нормальной флоры кишечника на здоровье и развитие новорожденного имеет огромное значение – именно ей принадлежит важнейшая роль в формировании иммунобиологической реактивности организма, регуляции процессов адаптации; снижении риска заболевания кишечными и респираторными инфекциями [4].

Неблагоприятно на процесс заселения микробиоценоза желудочно-кишечного тракта новорожденного могут повлиять многочисленные факторы (инфекционно-воспалительные заболевания, антибактериальная или гормональная терапия во время беременности, осложненные роды или роды путем кесарева сечения, искусственное вскармливание и отсутствие раннего прикладывания к груди, кишечный и вагинальный дисбактериоз у матери и другие), среди которых немаловажное значение принадлежит TORCH-инфекции у матери. Герпесвирусная инфекция среди инфекций TORCH-комплекса занимает одно из первых мест по частоте и отрицательному влиянию на состояние плода и новорожденного [2].

Заселение кишечника ребенка патологической флорой приводит к нарушению процессов становления иммунной системы, инверсии различных видов метаболизма, возникновению дефицита микронутриентов – витаминов, микроэлементов, минеральных веществ, что может вызывать необратимые процессы в организме [3]. Агрессивная колонизация кишечника условно-патогенной и

патогенной флорой приводит к «дисбактериозу», самыми частыми проявлениями которого у новорожденных являются срыгивания, рвота, частые колики, жидкий стул или наоборот запор, дети капризны, много плачут, отказываются от груди [1]. Но диспептические расстройства – это только «верхушка айсберга», поскольку есть научные доказательства причастности дисбиоза кишечника к аллергическим и воспалительным заболеваниям дыхательных путей у детей. Согласно данным клинических исследований микрофлора оказывает регулирующее влияние на формирование иммунного ответа организма, поскольку обеспечивает правильное соотношение Th-1/Th-2 лимфоцитов, способствует дифференцировке Т-хелперов и подавлению синтеза провоспалительных цитокинов. При патологической колонизации кишечника наблюдается дисбаланс между Th-1 и Th-2 иммунными ответами с преобладанием Th-2- проаллергенно-воспалительной реакции, что в дальнейшем проявляется атопическими реакциями (экзема, атопический дерматит, бронхиальная астма).

В настоящее время для регуляции микробиоценоза желудочно-кишечного тракта, профилактики и лечения некоторых специфических инфекционных заболеваний активно применяются пробиотические препараты на основе живых или лиофилизированных микроорганизмов, выделенных из организма человека. Пробиотические бактерии обладают иммуномодулирующим влиянием, они способны снижать реактивность Т-хелперов 2-го типа при одновременном повышении реактивности Т-хелперов 1-го типа и Т-супрессоров. Однако возможность

модулировать иммунный статус характерно не для всех видов пробиотических агентов, и является штамм-специфичным, данное свойство доказано только для некоторых видов бактерий [7]. В связи с этим, к выбору пробиотиков для профилактики и лечения аллергии следует подходить дифференцированно и опираясь на результаты доказательной медицины, поскольку использование отдельных видов пробиотических микроорганизмов или их комбинаций может быть не только не позитивным, но и способствовать Th-2 иммунному ответу, который модулирует аллергические реакции [8].

Среди множества видов пробиотиков, которые зарегистрированы в Украине, мы остановились на иммунобиологическом препарате Лактомун™ Эколоджик ПАНДА, который содержит комбинацию микроорганизмов (*Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus lactis*, *Bifidobacterium lactis*), специально разработанную для предупреждения и лечения дисбиоза и аллергии у детей раннего возраста. Отбор специфических бактерий основывался, главным образом, на их способности подавлять продуцирование Th2-цитокинов и стимулировать продуцирование IL-10 мононуклеарными клетками периферической крови [7]. Многочисленные исследования подтверждают эффективность вышеуказанных штаммов в профилактике и лечении детской экземы, и их способность модифицировать лимфоциты TH-1 и TH-2, изменяя профиль цитокина в пользу TH-1, снижать продукцию провоспалительных цитокинов, что и привлекло наше внимание [5, 6, 9].

Цель работы – оценить эффективность применения пробиотика Лактомун™ Эколоджик ПАНДА у новорожденных с дисбиозом и проявлениями аллергических реакций от матерей с герпесвирусной инфекцией.

Материал и методы исследования. Проведено открытое продольное проспективное медицинское наблюдение, в которое включили 60 новорожденных с дисбиозом и проявлениями аллергических реакций от матерей с герпесвирусной инфекцией: 30 детей дополнительно к стандартному лечению получали Лактомун™ Эколоджик ПАНДА (основная группа); 30 детей получали только стандартное лечение без Лактомуна™ Эколоджик ПАНДА (группа сравнения); 30 здоровых новорожденных (группа контроля).

Пробиотик Лактомун™ Эколоджик ПАНДА назначали в дозе 1/4 пакетика 2 раза в сутки. Продолжительность курса терапии составила 3 месяца.

Степень нарушений биоценоза кишечника у детей оценивали согласно методическим рекомендациям «Диагностика и лечение дисбактериозов кишечника», 1991 г.

Количественный анализ микрофлоры кишечника изучали путем посева серийных разведений 1 см³ испражнений на поверхность твердых дифференциально-диагностических сред: желточно-солевой агар, кровяной агар, среда Сабуро для грибов, тиогликолевая среда, среда Эндо и Плоскирева, для исследования нормальной микрофлоры использовали среду Блаурока (бифидум-бактерии) и среду MRS (лактобактерии). Количественные показатели роста бактерий перечисляли в десятичные логарифмы.

Материалом для иммунологического обследования была периферическая кровь новорожденных, в которой определяли абсолютное количество лейкоцитов и лимфоцитов и их популяций (CD3+, CD19+, CD16/56+, CD3+4+, CD3+8+, CD4+/CD8+). Субпопуляции лимфоцитов определяли методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител, направленных к белкам вируса герпеса, что позволяет выявлять вирусный антиген в клетках. Для определения поверхностного фенотипа клеток использовали моноклональные антитела (Becton Dickinson, США), меченые флюоресцеинизотиоцианатом (FITC) и фикоэритрином (PE). Исследовали состояние лимфоцитарных субпопуляций, а именно, Т-лимфоцитов (CD3+), Влимфоцитов (CD19+), натуральных киллеров (CD16/56+), Т-хелперов/индукторов (CD3+4+), Т-супрессоров/цитотоксиков (CD3+8+), в периферической крови новорожденных. Рассчитывали соотношение Т-хелперов/индукторов к Т-супрессорам/цитотоксикам (CD4+/CD8+).

Для исследования неспецифической реактивности организма определяли состояние фагоцитарной системы, активность комплемента и уровень провоспалительных цитокинов.

Метод определения фагоцитарной активности нейтрофилов крови базируется на способности фагоцитирующих нейтрофилов крови поглощать частицы латекса *in vitro*. Метод позволяет определить активность фагоцитоза, то есть процент фагоцитирующих клеток в крови, поглотивших частицы латекса, и интенсивность фагоцитоза, то есть среднее количество поглощенных частиц латекса каждой клеткой. В основе метод является морфологическим, количество фагоцитирующих клеток и поглощенных частиц подсчитывается в окрашенном мазке крови после прохождения реакции фагоцитоза. Активность фагоцитоза выражается в процентах (%), интенсивность фагоцитоза является безразмерной.

Метод определения 50-ти процентной литической активности комплемента (CH50) в опытной сыворотке крови в отношении к эритроцитам

овцы основан на способности комплемента лизировать эритроциты овцы, предварительно сенсibilизованные антителами. СН50 является тестом, который позволяет оценить состояние системы комплемента в целом, поскольку в процессе лизиса задействованы все ее компоненты – от начальных до терминальных и мембрано-атакующих комплексов. Результаты учитываются фотометрией, измеряется оптическая плотность раствора, в котором прошла реакция лизиса и развилась красная расцветка за счет выхода гемоглобина из лизированных эритроцитов. Активность комплемента рассчитывается по показателям оптической плотности согласно коэффициенту Крота и выражается в литических единицах (ЛЕ).

Определение уровней интерлейкина-6 (ИЛ-6) и интерлейкина-8 (ИЛ-8) в сыворотке крови проводили твердофазным иммуноферментным методом с использованием тест-систем производства ООО «Цитокин» (Россия) в соответствии с инструкцией, прилагаемой к набору реагентов.

Все полученные данные обработаны методами математической статистики, принятыми в медицине, с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение. В результате проведенного лечения улучшилось: клиническое состояние детей (исчезновение синдромов дизадаптации, кишечных расстройств, аллергических проявлений); состояние микробиоценоза кишечника; состояние иммунитета.

Как показали наблюдения (табл. 1), результаты комплексного лечения оказались удовлетворительными: у большинства детей к 7-9-му дню удалось нормализовать стул, устранить колики, метеоризм, кожные аллергические проявления.

После проведенного лечения в основной группе улучшились показатели микробиоценоза у 25,8 % детей, нормализовались – у 74,2%, в группе сравнения – соответственно у 36,7% и 46,7% и у 16,6% не отмечалось положительных сдвигов.

Так, до лечения (табл. 2) показатели микробного обсеменения кишечника детей обследованных

Таблица 1

Улучшение клинического состояния новорожденных в динамике лечения

	Основная группа				Группа сравнения			
	До лечения		На 10-й день лечения		До лечения		На 10-й день лечения	
	абс.ч.	%	абс.ч.	%	абс.ч.	%	абс.ч.	%
Срыгивание	18	60.0	3	10.0	20	66.7	10	33.3
Метеоризм	22	73.3	5	16.7	24	80.0	15	50.0
Колики	21	70.0	6	20.0	19	63.3	11	36.7
Диспептические явления (разжиженный стул с примесью слизи, зелени, непереваженными комочками)	15	50.0	5	16.7	18	60.0	10	33.3
Диарея	16	53.3	4	13.3	16	53.3	9	30.0
Запоры	24	80.0	9	30.0	27	90.0	15	50.0

Таблица 2

Состав микрофлоры кишечника новорожденных в динамике лечения, IgКУЕ/см³

	Основная группа		Группа сравнения		Контрольная группа	
	До лечения	На 10-й день лечения	До лечения	На 10-й день лечения	1-3 день	1 месяц
E.coli	6.7±0.18	7.8±0.9	6.2±0.12	6.9±0.7	6.8±0.14	7.9±0.8
Enterobacter cloacae	(6.5±0.3)*	(3.4±0.4)^#	(5.8±0.4)*	(4.8±0.6)*	2.0±0.3	3.2±0.3
Klebsiella pneumonia	(6.2±0.2)*	(3.0±0.3)^#	(6.0±0.3)*	(5.6±0.4)*	2.1±0.12	2.9±0.2
Proteus sp.	(4.2±0.14)*	(2.8±0.11)^#	(4.4±0.11)*	(3.8±0.10)*	2.0±0.11	2.7±0.1
Staphylococcus saprolyticus	4.0±0.12	3.2±0.5	4.1±0.1	3.5±0.3	3.2±0.16	3.1±0.4
Staphylococcus epidermidis	4.3±0.18	3.8±0.1	4.1±0.18	3.5±0.11	3.1±0.12	3.6±0.1
Staphylococcus aureus	(5.5±0.15)*	(3.0±0.2)^#	(5.7±0.13)*	(3.9±0.2)*^	-	2.9±0.1
Streptococcus faecalis	(7.0±0.3)*	(5.9±0.2)^	(6.8±0.5)*	6.4±0.3	5.0±0.4	5.8±0.1
Candida sp.	(4.1±0.2)*	(2.9±0.18)^#	(4.3±0.3)*	(3.9±0.15)*	2.1±0.2	2.8±0.1
Bidobacterium sp.	(4.3±0.37)*	(8.4±0.3)^#	(4.4±0.25)*	(5.4±0.4)*^	9.5±0.4	8.2±0.1
Lactobacillus sp.	(3.1±0.5)*	(6.9±0.4)^#	(3.0±0.3)*	(3.9±0.4)*	7.2±0.31	6.7±0.3

Примечания: * – разница достоверна относительно показателя детей контрольной группы (p<0,05);

^ – разница достоверна относительно показателя детей до лечения (p<0,05);

– разница достоверна относительно показателя детей группы сравнения (p<0,05).

груп були суттєво вище, ніж в групі контролю (клебсіелла, ентеробактер, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus faecalis*, гриби роду *Candida*). Після проведеного лікування у дітей основної групи показателі суттєво знизились і досягли таких у новонароджених групи контролю, чого не спостерігалося у дітей групи порівняння.

Концентрація нормальної мікрофлори (біфідобактерії, лактобацили) дітей обстежених груп на 1–3-і дні життя була незначительною і достовірно нижче відносно дітей групи контролю. На фоні проведеного лікування у дітей основної групи концентрація нормальної мікрофлори нормалізувалась, у дітей групи порівняння підвищення показателів було незначительним.

Після проведеного лікування (табл. 3) у дітей основної групи покращився клітинний імунітет – достовірно підвищення відносного вмісту лімфоцитів, Т-лімфоцитів (CD3+), Т-хелперів/індукторів (CD3+4+) і соотноше-

ння хелперів/супресорів (CD4+/CD8+). У дітей основної групи ці показателі не покращились.

Проведене лікування сприяє достовірним змінам в системі неспецифічної резистентності організму дітей основної групи (табл. 4). Об цьому свідчать: нормалізація показателів фагоцитарної функції; після лікування показателі активності і інтенсивності фагоцитозу новонароджених основної групи не відрізнялись від таких у дітей групи контролю; активність комплемента підвищилась і не відрізнялась від показателів дітей групи контролю; концентрація провоспалительних цитокінів ІЛ-6 і ІЛ-8 в динаміці лікування достовірно знизилась і не відрізнялась від значень новонароджених контрольної групи.

Висновки, перспективи подальших досліджень

Проведені дослідження пробіотика Лактомун™ Екооджик ПАНДА у новонароджених

Таблиця 3

Клітинний імунітет (відносний вміст лімфоцитів і субпопуляцій лімфоцитів в крові) новонароджених до і після лікування

	Лімфоцити	CD3 ⁺	CD19 ⁺	CD16/56	CD3 ⁺ 4 ⁺	CD3 ⁺ 8 ⁺	CD4/CD8
Основна група							
До лікування	41.34±2.1*	44.6±5.3*#	20.3±0.1*	8.4±1.0*	26.4±1.5*	26.5±1.4*	0.99±0.2*
Після	48.1±1.1#	62.3±1.2	23.7±1.7	10.8±0.5	38.1±1.9#	23.4±1.7	1.80±0.21*#
Група порівняння							
До лікування	40.3±1.5*	51.2±1.5*	21.3±0.8*	7.9±0.9*	28.6±1.2*	26.8±1.3*	1.09±0.14*
Після	42.1±2.2*	53.0±1.3*	22.8±1.7	11.3±0.6	31.4±1.9*	23.5±1.7	1.22±0.21*
Група контролю	49.0±2.5	62.5±1.0	25.0±1.3	12.5±1.1	44.0±1.5	21.5±0.9	2.20±0.18

Примітки: * – різниця достовірна відносно показателя дітей контрольної групи (p<0,05);

^ – різниця достовірна відносно показателя дітей до лікування (p<0,05);

– різниця достовірна відносно показателя дітей групи порівняння (p<0,05).

Таблиця 4

Показателі неспецифічного імунітету в крові новонароджених в динаміці лікування

	Активність фагоцитозу, %	Інтенсивність фагоцитозу	Активність комплемента, ЛЕ	ІЛ-6, пкг/мл	ІЛ-8, пкг/мл
Основна група					
До лікування	30.82±1.57*	6.18±0.34*	24.61±1.88*	23.58±2.89*	21.47±2.98*
Після	39.79±1.64*^	4.88±0.33*	29.09±2.24	11.54±1.16^	13.78±1.56^
Група порівняння					
До лікування	31.74±1.26*	6.08±0.30*	25.07±1.63*	23.12±3.11*	22.21±2.54*
Після	34.04±1.74*	5.19±0.37	23.1±2.14*	13.61±1.28*	15.50±1.29*^
Група контролю					
3-5-й день	38.63±1.46	3.85±0.33	30.79±2.37	14.5±2.51	13.16±2.20
1 місяць	42.16±1.96	4.32±0.35	30.01±2.46	10.77±0.93	11.02±0.92

Примітки: * – різниця достовірна відносно показателя дітей контрольної групи (p<0,05);

^ – різниця достовірна відносно показателя дітей до лікування (p<0,05);

– різниця достовірна відносно показателя дітей групи порівняння (p<0,05).

с дисбіозом і проявленнями алергических реакцій от матерей с герпесвірусною інфекцією показали його високу ефективність, о чем свідельствує улучшение: клінічного стану новонароджених – більше швидке, чем в групі порівняння, усунування симптомів захворювання (нормалізація стула, усунування срыгивання, колик, метеоризма, кожных алергических проявлений); показателів мікробіоценозу (у 74,2% протів 46,7% дітей групі порівняння); показателів клітинного і неспецифічного імунітету (фагоцитарна функція, активність комплемента, провоспалительні цитокіни ІЛ6 і ІЛ8).

Кормлення грудью і додаткове використання пробіотиків сприяє заселенню кишечника новонароджених здоровою мікрофлорою,

улучшає стан імунітету, а також знижує ризик розвитку алергических реакцій, кишечних інфекцій, НЭК, кишечних колик.

Привлекательность пробіотиків обусловлена їх безпекою і простотою застосування. Вони повинні широко внедряться в практику неонатологов і стати предметом дальніших досліджень по розробці оптимальних дозровок і режимів їх застосування.

Раннє введення пробіотиків в харчування новонароджених благотворно впливає на їх фізичне розвиток, но потребують дальніших досліджень, оцінюють віддалені результати впливу різних препаратів на імунітет, і поэтому слід удержатися от їх рутинного призначення при відсутності показань.

ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ильченко Л. И. Дисбактериоз кишечника у детей. Традиционные и нетрадиционные подходы к лечению и профилактике / Л. И. Ильченко // Биологическая терапия. – 2000. – № 3. – С. 9-15.
2. Исаков В. А. Герпесвирусные инфекции человека : [рук-во для врачей] / В. А. Исаков, Е. И. Архипова, Д. В. Исаков. – Спецлит, 2006. – 302 с.
3. Особливості формування системи мікробіоценозу у новонароджених та немовлят та шляхи його оптимізації / Л. І. Тутченко, В. Д. Отт, Т. Л. Марушко // Журнал практ. лікаря. – 2001. – № 5. – С. 24-30.
4. Янковский Д. С. Микробная экология человека: современные возможности ее поддержки и восстановления / Д. С. Янковский. – К., 2005. – 101 с.
5. Dev S., Mizuguchi H., Das A.K. et al. Suppression of histamine signaling by probiotics Lac-B: a possible mechanism of its anti-allergic effect. J Pharmacol Sci, 2008, 107(2):159-66.
6. Huurre A., Laitinen K., Rautava S. et al. Impact of maternal atopy and probiotics supplementation during pregnancy on infant sensitization: a double-blind placebo-controlled study. Clinical and Experimental allergy, 2008, 38:1342-1348.
7. Niers L. E., Timmerman H. M., Hijckers G. T., Van Bleek G. M., Van Uden, N. O., Knol E. F. et al. Identification of strong interleukin 10 inducing lactic acid bacteria which down-regulate T helper type 2 cytokines // Clin. Exp. Allergy. – 2005. – Vol. 35. – P. 1481-1489.
8. Pohjavuori E. et al. Lactobacillus GG effect in increasing IFN-gamma production in infants with cow's milk allergy // J Allergy Clin Immunol, 2004, Vol.114. – N1. – P.131-136.
9. Taipale T. et al. Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb-12 in reducing the risk of infections in infancy. Br J Nutr. 2010; 24: 1-7.

ЕФЕКТИВНІСТЬ СЕЛЕКТИВНИХ ПРОБІОТИКІВ В ЛІКУВАННІ НОВОНАРОДЖЕНИХ З ДІЗБИОЗОМ КИШКІВНИКА ТА ПРОЯВАМИ АЛЕРГІЧНИХ РЕАКЦІЙ

Т.К. Знаменська, Т.В. Коломійченко

Резюме. Наведено результати дослідження щодо застосування пробіотика Лактомун™ Еколоджик ПАНДА у новонароджених з дисбіозом і проявами алергічних реакцій від матерей з герпесвірусною інфекцією. Доведено його високу ефективність, про що свідчить поліпшення: клінічного стану новонароджених (нормалізація випорожнень, припинення зригування, колик, метеоризму, шкірних алергічних проявів); показників мікробіоценозу; показників клітинного і неспецифічного імунітету (фагоцитарна функція, активність комплемента, протизапальні цитокіни ІЛ-6 і ІЛ-8).

Ключові слова: новонароджені, дисбіоз, алергія, герпесвірусна інфекція, лікування, пробіотик LACTOMUN™

EFFICIENCY OF SELECTIVE PROBIOTICS IN TREATMENT OF NEW-BORN WITH INTESTINE DYSBIOSIS AND ALLERGIC REACTIONS

T.K. Znamekaya, T.V. Kolomiichenko

Summary. The results of research on application are represented probiotic LACTOMUN™ at new-born with dysbiosis and displays of allergic reactions from mothers with a herpes infection. His high efficiency is proved, what the improvement testifies to: clinical state of new-born (normalization of chair, removal of regurgitation, colics, flatulence, skinning allergic displays); indexes of microbiocenose; indexes of cellular and unspecific immunity (phagocytic function, activity of complement, proinflammatory cytokines IL-6 and IL-8).

Key words: new-born, dysbiosis, allergy, herpes infection, treatment, probiotic LACTOMUN™