

УДК 616-053.2:613.95+616-002+612.017.1:615.37

**Д.С. Янковский<sup>1</sup>, В.П. Ширококов<sup>2</sup>, Г.С. Дымент<sup>2</sup>**

## Роль микробиома в формировании здоровья ребенка (обзор литературы)

<sup>1</sup>НПК «О.Д. Пролисок», с. Великая Ольшанка, Украина<sup>2</sup>Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, г. Киев, Украина

Modern pediatrics. Ukraine. 2019.5(101):64-111; doi 10.15574/SP.2019.101.64

**For citation:** Yankovsky DS, Shirobokov VP, Dyment GS. (2019). The role of microbiome in the formation of child health (literature review). Modern Pediatrics.Ukraine. 5(101): 64-111. doi 10.15574/SP.2019.101.64

Обзор посвящен изучению связи микробиома с физиологическими и патологическими процессами, протекающими при развитии организма ребенка. Приведены современные данные, касающиеся становления микробиома у детей, начиная с внутриутробного развития плода, а также микробиомных изменений, протекающих в процессе онтогенеза. Дана характеристика состава и функциональной активности микробиоты у детей раннего возраста. Описано влияние измененного микробиома на развитие заболеваний детского возраста. Проведен анализ результатов исследований, касающихся целесообразности использования отдельных средств оздоровления микробиома при разной форме детской патологии.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Ключевые слова:** микробиом, микробиота, метаболиты, заболевания, воспаление, дисбиоз, иммунитет, пробиотики, пребиотики, синбиотики, энтеросорбенты.

### Роль мікробіома у формуванні здоров'я дитини (огляд літератури)

**Д.С. Янковський<sup>1</sup>, В.П. Ширококов<sup>2</sup>, Г.С. Димент<sup>2</sup>**<sup>1</sup>НПК «О.Д. Пролісок», с. Велика Ольшанка, Україна<sup>2</sup>Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

Огляд присвячено вивченню зв'язку микробиома з фізіологічними і патологічними процесами, що відбуваються під час розвитку організму дитини. Наведено сучасні дані щодо становлення микробиома у дітей, починаючи з внутрішньоутробного розвитку плода, а також микробиомних змін, що відбуваються у процесі онтогенезу. Охарактеризовано склад і функціональну активність микробиоти у дітей раннього віку. Описано вплив зміненого микробиома на розвиток захворювань дитячого віку. Проведено аналіз результатів досліджень щодо доцільності використання окремих засобів оздоровлення микробиома при різних формах дитячої патології.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

**Ключові слова:** микробиом, микробиота, метаболіти, захворювання, запалення, дисбіоз, імунітет, пробіотики, пребіотики, синбіотики, ентеросорбенти.

### Микробиом ребенка и факторы, влияющие на его формирование

Прошло уже больше 18 лет с тех пор, как было сформулировано научное определение микробиома как уникального органа человека, основу которого составляет совокупность микробных сообществ различных экологических ниш [150]. С тех пор изучение микробиома прогрессировало в исключительно быстром темпе. В частности, многочисленные исследования, давшие весьма интересные результаты, были проведены в рамках проекта «Микробиом человека» (Human Microbiome Project) [244]. В ходе реализации этого проекта получено множество убедительных доказательств огромного потенциала воздействия микробиома на различные процессы функционирования организма человека, включая метаболические механизмы мозга [19,35,39,40,59,63,73,77,83,226,227,245,258,268,269,275].

Особый интерес вызывают вопросы становления микробиома у детей, поскольку от степени физиологичности этого процесса зависит не только рост и развитие детского организма, но и его здоровье в дальнейшие стадии жизни.

Первичное формирование микробиома в биотопах ребенка имеет свои характерные особенности, значительно отличающиеся от механизмов развития всех остальных тканей,

органов и систем. Этот процесс происходит, в основном, в перинатальном и раннем детском возрасте, и на его развитие влияют многие факторы, в частности состояние микробиома матери, характер вскармливания ребенка, рацион женщины во время беременности и грудного вскармливания, качество грудного молока, применение медикаментозной терапии (особенно антибиотиков), состояние окружающей среды и др.

Результаты исследований последних лет поставили под сомнение прежние представления о стерильности условий плацентарного периода развития плода и пошатнули уже ставшее классическим утверждение о том, что первое знакомство организма младенца с живой микрофлорой происходит в родовых путях матери. В ряде работ получены убедительные свидетельства того, что процесс становления микробной системы начинается еще в период внутриутробного развития плода за счет формирования в организме беременной уникального по своей значимости микробиома плаценты, о существовании которого специалисты не так давно даже не подозревали [18,20,28,54,85,88,200,236].

Первые сведения о том, что микробиом может формироваться у млекопитающих еще

до рождения, появились в 2008 году. Исследователи из университета Комплутенсе в Мадриде (Complutense University of Madrid) добавляли в корм беременным мышам молоко, содержащее меченые микроорганизмы. За день до назначенного срока родов мышам провели кесарево сечение в стерильных условиях, а у новорожденных мышей исследовали меконий, в котором обнаружили меченые бактерии [119].

В 2009 году американские исследователи опубликовали данные об изоляции из плаценты 34 пациенток ДНК бифидобактерий и лактобацилл [220]. Поскольку культивированием на питательных средах живые микроорганизмы обнаружить не удалось, авторы этого исследования предположили возможность транслокации молекул нуклеиновых кислот через плацентарную оболочку. По мнению исследователей, функция обнаруженных в плаценте нуклеиновых кислот может заключаться в способствовании более раннему, чем предполагалось, развитию иммунных механизмов Th-1-типа через активацию Toll-9-подобного рецептора [220].

Убедительные доказательства способности микробиоты беременной женщины преодолевать плацентарный барьер были получены в 2012 году группой ученых из Университета Валенсии, обнаружившей бактерии рода *Lactobacillus* и *Escherichia* в меконии 20 новорожденных детей [100]. Причем, примерно у половины новорожденных доминирующими оказались лактобациллы, в то время как у другой половины преобладала кишечная палочка. Зависимость соотношения между лактобациллами и эшерихиями от различных внешних факторов и физиологических особенностей организма матери четко установлена не была, однако исследователи предположили, что состав микробиома новорожденных зависит от образа жизни беременной женщины, ее диеты и физической нагрузки [100].

Позже присутствие микроорганизмов в меконии было подтверждено другими исследованиями [92,178,236]. Авторы этих работ установили, что преобладание в меконии условно-патогенных бактерий ассоциировалось с предрасположенностью младенцев к аллергическим и респираторным заболеваниям.

Кратковременная колонизация стерильных мышей во время беременности обеспечивает созревание врожденного иммунитета у их безмикробных отпрысков, что дает лучшую защиту от инфекций [90]. Поскольку инфекции

играют важную роль в нарушении развития ребенка, эти результаты предполагают, что транслокация кишечных микробных продуктов от матери плоду играет важную роль в созревании иммунитета и, возможно, в развитии фенотипа ребенка после рождения.

В 2014 году исследователи из Техасской детской больницы в Хьюстоне определили генетические последовательности бактерий из плацент 320 женщин. Ткани брались сразу же после родов, изнутри плаценты, то есть отобранные образцы не соприкасались с микробиотой родовых путей. В исследованных тканях был обнаружен удивительно широкий спектр бактерий. Выявление этого микробного сообщества свидетельствует о существовании уникального плацентарного микробиома, который, бесспорно, представляет важнейшее значение для развития плода и последующего становления микробной системы ребенка [20].

Используя метагеномный анализ, ученые обнаружили в плаценте бактерии пяти основных типов микробиома взрослого человека: *Firmicutes*, *Tenericutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* и *Fusobacteria* [20].

Главной неожиданностью для ученых стало то, что эти микроорганизмы отличались от кишечных и вагинальных микросимбионтов женщин, но оказались идентичными бактериям, широко представленным в составе биоценоза ротовой полости. Принимая во внимание выявленные различия между плацентарными микробиомами женщин, выносивших ребенка полный срок, и родивших преждевременно (до 37-й недели беременности), исследователи сделали вывод, что патологический микробиом плаценты может быть фактором риска преждевременных родов. Кроме того, установлено, что на состав плацентарной микрофлоры негативно влияют перенесенные матерью до родов инфекционные заболевания, в первую очередь инфекции мочевыводящих путей в первом триместре беременности [262].

Следует отметить, что микрофлора ротового происхождения обнаруживалась в амниотической жидкости женщин и ранее. Так, еще в 2002 году появилось сообщение об изоляции из околоплодных вод беременных с запланированным кесаревым сечением фузобактерий и стрептококков, идентичных микрофлоре ротовой полости. Но тогда исследователи предположили возможности инфицирования околоплодных вод условно-патогенными микроорганизмами за счет их транслокации из

ротовой полости по кровотоку и предложили рассматривать этот феномен в качестве одного из маркеров осложнений беременности [32].

Совсем недавно группа австралийских исследователей из Университета Эдит Коуэн (Edith Cowan University) и Университета Западной Австралии (University of Western Australia) убедительно подтвердили наличие микробов в плаценте, амниотической жидкости и меконии новорожденных. Ученые установили присутствие в этих микробиомах широкого спектра видов бактерий, распространенных на коже, в ротовой полости и кишечнике людей [236].

Выявление у плаценты собственной микробной экологии, которая, бесспорно, оказывает существенное влияние на рост и развитие плода, в том числе на формирование его микробиома, свидетельствует о более масштабном влиянии микробиома женщины на здоровье ребенка, чем предполагалось еще недавно. Кроме того, полученные результаты являются еще одним доказательством справедливости положения о тесной взаимосвязи локальных биоценозов организма, объединенных в единую микробную экологическую систему, участвующую в самых различных функциях и реакциях других органов и систем, обеспечивая и поддерживая гомеостаз.

Таким образом, в нормальных условиях адаптация ребенка к жизни в микробном мире начинается задолго до рождения, и от качества внутриутробного микробного окружения зависит как развитие плода, так и физиологичность рождения и постнатальное здоровье ребенка. Встреча с симбиотическими микроорганизмами уже в утробе матери — это важнейший механизм длительной адаптации плода и его иммунологического аппарата к жизни в мире микробов, в который он попадет после рождения. В этой связи чрезвычайно важным представляется оздоровление микробиома женщины еще на стадии планирования беременности с дальнейшим поддержанием его нормального состояния на протяжении всей беременности и периода грудного вскармливания ребенка, то есть в периоды максимального воздействия микрофлоры женского организма на формирование у ребенка собственного микробиома. При этом внимание должно уделяться не только состоянию кишечного и вагинального биоценозов, но и всех остальных биотопов организма, включая ротовую полость.

В дальнейшем, в период рождения и постнатально, ребенок активно колонизируется мате-

ринскими штаммами других биотопов: кишечника, влагалища, кожи, грудного молока.

Так, Н. Makino и соавт. (2013) установили, что кишечник родильницы является для ее ребенка важным источником колонизации физиологическими микроорганизмами, в частности бифидобактериями. По данным исследователей, здоровые младенцы, рожденные естественным путем, приобретают в течение первых трех дней после рождения от 1 до 7 штаммов бифидобактерий из кишечного микробиома матери [164].

Важным фактором, влияющим на процесс микробной колонизации биотопов организма и формирование микробиома, является гестационный возраст ребенка. Заселение слизистых оболочек симбиотическими микроорганизмами у недоношенных детей часто проходит более медленно, у них наблюдается большая вариабельность биоценозов и меньшее их разнообразие по сравнению со здоровыми доношенными детьми [85,156,164]. Есть сведения, что с преждевременным рождением может быть связано нарушение состава материнского микробиома [18,51,127,206].

По данным D.A. Chernikova и соавт. (2018), недоношенные дети имеют различия в разнообразии микробиома в зависимости от гестационного возраста [51]. Ранними поселенцами биотопов недоношенных детей часто являются условно-патогенные представители родов *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Clostridium*, *Candida* и др. [5,15,17,96,118,119]. В то же время обычные для кишечника здоровых доношенных детей сахаролитические анаэробы родов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* в стуле недоношенных детей обнаруживаются не всегда и в недостаточном количестве [15,164]. Замедленная колонизация и меньшее разнообразие кишечной микробиоты у недоношенных детей в некоторой степени связаны с содержанием их в асептических условиях отделений интенсивной терапии и отсроченным кормлением *per os* [156]. Кроме того, широкое использование антибиотиков у таких детей также может быть важным фактором, ответственным за нарушение состава микробиоты [10,11,198], из-за чего недоношенные дети могут быть более восприимчивыми к расстройствам функций желудочно-кишечного тракта, развитию инфекционных заболеваний и такой тяжелой формы патологии, как некротический энтероколит [11,37,53,180].

Заметную роль в формировании полноценного микробиома ребенка играет способ родо-

разрешения. Установлено, что состав фекальной флоры детей, рожденных естественным путем, был наиболее близок к вагинальным сообществам матерей с преобладанием родов *Lactobacillus*, *Prevotella* и *Atopobium*. Что же касается детей, рожденных путем кесарева сечения, то у них бактериальный состав фекалий был наиболее близким к микробиоте кожи матери с преобладанием бактерий родов *Staphylococcus* и *Corynebacterium* [94,118,156].

Н.Е. Jakobsson и соавт. (2014) установили, что у детей, рожденных путем кесарева сечения, по сравнению с детьми, рожденными естественным путем, в течение первых двух лет жизни отмечается более низкое микробное разнообразие в кишечном биотопе, характеризующееся медленным становлением популяций типа *Bacteroidetes* и сниженным Th1-ответом [115].

Дети, рожденные путем кесарева сечения, часто колонизируются потенциально патогенными видами клостридий. В составе микробиома таких детей содержится мало бифидобактерий, но присутствуют в значительном количестве бактерии вида *Clostridium difficile*, которые появляются в кишечнике уже в первые три дня жизни [198]. В то же время микробиом вагинально рожденных детей отличается высокими популяциями бифидобактерий, в частности видов *Bifidobacterium longum* и *B. Catenulatum*, и редким присутствием представителей вида *Clostridium difficile* [156,198].

Вызывают интерес обнаруженные в последние годы ассоциации между специфическими микробными таксонами, особенно в кишечном микробиоме, и генотипом макроорганизма [35,40,59,91,136,227]. Одна из таких ассоциаций наблюдается между уровнями экспрессии материнского гена фукозилтрансферазы-2 (FUT2) и поселением в кишечнике младенца бактерий рода *Bifidobacterium*. При этом младенцы, рожденные от матерей, не секретирующих этот фермент (FUT2-/-), имеют задержку с колонизацией кишечника представителями рода *Bifidobacterium* [28,154]. Как известно, члены этого рода являются главной компонентой кишечного микробиома ребенка на грудном вскармливании, поскольку они уникально приспособлены для метаболизма олигосахаридов материнского молока [24,28,234] и играют ключевую роль в поддержании здоровья ребенка благодаря регуляции кишечной проницаемости и уменьшению воспаления [52].

Особое значение в последние годы придается пролиферации в кишечнике новорожденных детей бифидобактерий подвида *B. longum. spp. infantis*. Уникальность этих бактерий для детского организма заключается в наличии в составе их генома особого кластера размером 43 тыс. пар оснований [86,151,152,229]. Четыре из 30 расположенных на нем генов кодируют синтез ферментов, расщепляющих олигосахариды грудного молока до моносахаридов [86,134]. Эта группа ферментов содержит сиалидазу, фукозидазу, N-ацетил-β-гексозаминидазу и β-галактозидазу.

По данным Е. Rosberg-Cody и соавт. (2004), отдельные штаммы бифидобактерий, входящих в состав микробиоты здоровых младенцев, способны продуцировать конъюгированные изомеры линолевой кислоты с доказанным противоопухолевым и противовоспалительным эффектом [216].

При рождении путем кесарева сечения дети лишены поступления в биотопы их организма вагинальной и кишечной микрофлоры матери, в связи с чем отличаются более длительным и болезненным конструированием биоценозов, чаще подвергаются колонизации госпитальными штаммами, развитию дисбиозов и инфекционных заболеваний [4,10,11,13,18,156,277].

Таким образом, начальная колонизация, запускаемая плацентарным микробиомом внутриутробно, после рождения ребенка определяется в большой степени микроорганизмами, которые транслоцируются в детский организм из влагалища, пищеварительного тракта и кожи матери [85].

Важнейшее значение в становлении микробиома имеет способ кормления ребенка. Поступление в пищеварительный тракт младенца сразу же после рождения первых порций молозива, содержащего не только ценные питательные, иммунные и бифидогенные факторы, но и живую микрофлору, играет большую роль в становлении физиологического микробиома [10,45,55,66,95,110,119,146,166,179,190]. По различным оценкам, 25–30% бактериальной микробиоты младенцев происходит из грудного молока [193].

Особое значение в становлении здорового микробиома младенца с преобладанием физиологических бифидобактерий играют олигосахариды грудного молока. Материнское молоко/молозиво содержит от 5 до 23 г/л олигосахаридов [143,280], которые на лактозавосстанавливаемом конце содержат фуко-

зилированные и/или сialiрированные N-ацетиллактозаминные единицы [41]. Присоединение этих единиц приводит к формированию более 200 различных структур олигосахаридов материнского молока (НМО), которые различаются по размеру, заряду и последовательности [41].

Известна антиадгезивная способность НМО, которая основана на связывании патогенных бактерий и препятствии их адгезии целевым олигосахаридам муцинов или эпителиоцитам [184]. В частности, антиадгезивная активность свободных НМО была описана для патогенных бактерий видов *Streptococcus pneumoniae* [25], энтеропатогенной *E. coli* [25,56], *Listeria monocytogenes*, *Vibrio cholerae* [56], *Salmonella fityris* [56], а также возбудителя иммунодефицита человека (ВИЧ) [106]. Гликолипиды и гликопротеины женского молока, предположительно, участвуют также в защитных механизмах против колонизации такими патогенами, как *Pseudomonas aeruginosa* [153], *Noroviruses* [117], *Vibrio cholerae* [18] и *Rotovirus* [273].

Ряд молекул, содержащихся в зрелом молоке и молозиве, дополняют врожденный иммунитет, воздействуя на состав микробиома ребенка. К антимикробным факторам, из которых некоторые активируются при частичном переваривании молока, относятся жирные кислоты и пептиды, входящие в состав молока [203,241]. Кроме того, такие компоненты молока, как секреторный IgA, лактоферрин, лизоцим, липопротеин-липаза, а также растворимые сигнальные молекулы модулируют локальный и системный иммунитет новорожденного [148]. Хорошо известно ингибирующее действие молока на патогенные микробы, однако оно оказывает также положительное селективное влияние на симбиотическую микробиоту. Действительно, появляется все больше данных, свидетельствующих, что с материнским молоком в организм ребенка поступают живые бактериальные клетки и продукты, которые способствуют инокуляции или настройке толерантных ответов у ребенка [162,199].

Если ранее существовало мнение об относительной стерильности молока здоровых женщин и возможной контаминации его только микрофлорой кожи в области молочных желез, то в последнее время установлено существование специфического микробиома грудного молока. Бактериальное сообщество данного физиологически ценного для младенца субстрата, бесспорно, выполняет важные функции в становлении его микробной экологической системы [28,54,79].

Согласно результатам работы группы испанских и финских ученых, молоко здоровой женщины содержит сотни видов различных бактерий [167,168]. Причем наибольшим разнообразием отличается молозиво, в котором ученые обнаружили более 700 видов микроорганизмов [190].

Исследования, проведенные А. Donnet-Hughes и соавт. (2010), установили участие дендритных клеток слизистых оболочек в процессе транслокации микробиоты из кишечника в ткань молочной железы в период лактации [66].

L. Fernandez и соавт. (2013) представили некоторые механизмы, посредством которых микробиота матери поступает в молозиво и грудное молоко. По мнению авторов, это происходит на поздних сроках беременности и в период лактации с участием кишечных моноцитов [79].

В нормальных условиях микробиота женского молока представляет собой дополнительную дозу физиологических бактерий, попадающих *per os* в пищеварительный тракт ребенка [79,119,166]. Эти бактерии защищают ребенка от инфекций и способствуют созреванию его иммунной системы. С другой стороны, дисбиоз молочной железы, обусловленный пролиферацией условно-патогенных микроорганизмов, может явиться причиной развития мастопатии и риска заражения ребенка опасной микрофлорой [79,172].

Грудное молоко здоровой женщины представляет собой эффективный природный синбиотик, играющий существенную роль в оптимизации становления микробиома и иммунной системы в постнатальном периоде. С увеличением периода лактации микробный состав молока меняется в сторону уменьшения видового разнообразия, что ассоциируется с увеличением видовой численности собственной микрофлоры младенца и снижением потребности в притоке такого видового разнообразия микрофлоры с молоком. Большее значение на этом этапе, очевидно, приобретает усиление формирующегося микробиома и иммунной системы за счет бифидогенных и иммунных факторов молока. Материнское молоко является также важным источником секреторного иммуноглобулина (sIgA), что очень важно, учитывая весьма пассивный неонатальный иммунитет младенца [172].

Сроки первого прикладывания к груди и естественное вскармливание ребенка вносят существенный вклад в формирование здорово-

го микробиома. Известно, что в период лактации физиологические бактерии накапливаются в значительном количестве на поверхности сосков и ареол молочных желез здоровой кормящей женщины, откуда также поступают в молоко и пищеварительный тракт ребенка, укрепляя развивающийся микробиом [45,146].

Зависимость степени интеграции микробиома в функционирование пищеварительной системы организма ребенка от характера его питания не вызывает сомнений. Особенно ярко эта закономерность проявляется у детей первого года жизни, находящихся на естественном или искусственном вскармливании. Поступление с женским молоком лактозы и олигосахаридов, стимулирующих развитие сахаролитических анаэробов, способствует благополучному становлению физиологической микробиоты кишечника новорожденного ребенка с преобладанием бактерий родов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*, в то время как при искусственном вскармливании смесями на основе коровьего молока в составе кишечного микробиома преобладают стрептококки, бактериоиды и представители семейства *Enterobacteriaceae*.

Дети, получающие грудное молоко, отличаются от детей, вскармливаемых адаптированными смесями, не только более здоровым кишечным микробиомом с преобладанием бифидобактерий и лактобацилл, но и имеют лучшую устойчивость к инфекционным и аллергическим заболеваниям, для них характерно физиологическое развитие механизмов иммунного ответа [18,10,11,45,95].

Соответственно меняется и спектр бактериальных метаболитов в кишечнике, и характер метаболических процессов. Так, при естественном вскармливании среди продуктов брожения преобладают ацетат и лактат, а при искусственном — ацетат и пропионат. В кишечнике детей, находящихся на искусственном вскармливании, в больших количествах образуются метаболиты белкового обмена (фенол, крезол, аммиак и др.). При этом детоксикационная функция пищеварительной системы относительно данных продуктов является сниженной. У детей, питающихся молочными смесями, также выше активность  $\beta$ -глюкуронидазы и  $\beta$ -глюкозидазы, что характерно для метаболизма некоторых представителей родов *Bacteroides* и *Clostridium*. Результатом подобных модификаций состава микробиома является не только снижение метаболических функций, но также и прямое повреждающее действие на кишечник [276].

Таким образом, в неонатальном периоде организм ребенка переживает сложный этап становления микробиома, играющего важную роль в адаптации младенца к жизни вне тела матери. Множество факторов, влияющих на этот процесс, является одной из причин нестабильности неонатального микробиома и особой его уязвимости к воздействию неблагоприятных изменений эндогенного и экзогенного характера. Имеющиеся сведения предполагают, что микробиом может частично модифицироваться на протяжении жизни, однако начальное развитие этого уникального микробного органа может иметь особое значение для формирования центрального звена микробиома, который устойчив к дальнейшей модификации. Дисрегуляция микробиома в начальный, критический, период в младенчестве может иметь длительные последствия на иммунную и метаболическую функцию, чему трудно дать обратный ход [84,177].

#### **Изменения микробиома детей в процессе онтогенеза**

Становление микробиома продолжается несколько лет и в большой степени зависит от состояния микробной экологии организма матери, способа родоразрешения, вскармливания и содержания ребенка. Полагают, что период от оплодотворения яйцеклетки до двухлетнего возраста представляет собой критическое окно роста и развития в раннем детстве [214]. Этот пренатальный и ранний постнатальный период определяется быстрым созреванием метаболических, эндокринных, нервных и иммунных путей, которые сильно влияют на рост и развитие ребенка и поддерживают этот процесс. Все эти пути развиваются в тандеме и сильной взаимозависимости, и со сложной программой формирования микросообществ в зависимости от внутренних и внешних сигналов [214].

По мнению ряда исследователей, достаточно устойчивая конфигурация стабильно поселившихся бактерий достигается у детей приблизительно в 4-летнем возрасте [43,161,272]. Вместе с тем исследования J. Cheng и соавт. (2015) свидетельствуют о том, что кишечная микробиота зачастую не является установившейся еще и в 5-летнем возрасте [50]. Есть данные, что главные изменения в составе микробиома происходят в периоде между 2-летним возрастом и периодом созревания организма [29].

Аутогенная сукцессия особенно четко прослеживается в течение первых 2-3-х лет жизни

ребенка и проходит несколько этапов: до введения прикорма, после появления прикорма, после включения в рацион твердой пищи, после прекращения грудного вскармливания. Изменения в составе микробиома также обусловлены физиологическими процессами, протекающими в организме ребенка при его развитии, например, становлением иммунной и ферментативной систем, изменением гормонального фона в подростковом возрасте и др. [161].

Последовательная смена микробиоты в начале жизни играет важную роль в развитии и созревании эндокринной, мукозальной, иммунной и центральной нервной систем [214].

P. Ferretti и соавт. (2018) изучали развитие микробиома от рождения до четырех месяцев послеродового периода с участием 25 пар «мать—ребенок» [81]. Результаты исследования показали, что начальный микробиом младенца содержал материнские вагинальные, кожные, ротовые и фекальные штаммы, причем вариабельность в каждом участке была очень большой, несмотря на то, что все младенцы были рождены вагинально. По данным авторов, кожная и вагинальная трансмиссия были недолговечными, и микробный состав кишечника младенца имел наибольшее сходство с кишечным микробиомом матери на четвертом месяце жизни [81].

Проследив некоторые закономерности становления микробиома у практически здоровых детей, американские ученые пришли к выводу о важнейшем значении изменений состава пищи и возраста ребенка в этом процессе [137]. С увеличением возраста младенца и при введении прикорма заметно возрастает филогенетическое разнообразие микробиома [137,191]. Перевод детей на твердую пищу приводит к быстрому и устойчивому изменению кишечной микробиоты. Если в первые недели после рождения в метагеноме кишечного сообщества ребенка в преобладающем количестве обнаружены гены, ответственные за ферментацию лактозы и олигосахаридов женского молока, то с введением в рацион твердой пищи отмечено резкое возрастание числа генов, ассоциированных с расщеплением растительных углеводов, деградацией ксенобиотиков, синтезом расширенного спектра короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), биосинтезом витаминов и аминокислот [137].

При определении рациона ребенка первого года жизни следует также учитывать зависимость от питания последовательность становления метаболических функций. Установлено,

что в норме расщепление муцина начинает проявляться после трех месяцев жизни и формируется к концу первого года, деконъюгация желчных кислот наблюдается с первого месяца жизни, синтез копростанола — во втором полугодии, синтез уробилиногена — в 11–21 месяц. Активность  $\beta$ -глюкуронидазы и  $\beta$ -глюкозидазы при нормальном становлении кишечного микробиома в течение первого года жизни остается низким [68].

J.E. Koenig и соавт. (2011) исследовали изменение состава кишечного микробиома у ребенка на протяжении более двух лет. Результаты исследований, проведенных с использованием 16S рНК пиросеквенирования, показали, что введение в рацион ребенка, питающегося грудным молоком, приблизительно с 5-месячного возраста твердой пищи приводило к устойчивому и обильному увеличению в его кишечнике грамотрицательных бактерий типа *Bacteroidetes* [137]. В свою очередь, M. Fallani и соавт. (2010) с применением флюоресцентной гибридизации *in situ* исследовали состав фекальной микробиоты у 531 ребенка до отнятия от груди и через четыре недели после первого кормления твердой пищей. Они показали, что после отнятия от груди у детей значительно увеличилось количество клостридий видов *Clostridium coccoides* и *C. leptum* на фоне численного понижения представителей рода *Bifidobacterium* [74].

Таким образом, одним из важнейших регуляторов состава и функционального разнообразия микробиома, соответствующего различным возрастным этапам жизни, является рацион питания ребенка. При завершении периода грудного вскармливания детский микробиом очень быстро становится идентичным микробиому взрослого человека, что наделяет его новыми свойствами, в том числе способствует эффективному использованию в качестве энергетического и пластического материала нутриентов новой, более сложной пищи.

Несмотря на множество экзогенных факторов, влияющих на формирование микробиома, следует учитывать и наследственные особенности. В ряде работ показано, что у близнецов в течение первого года жизни состав микробиома имеет значительно больше общего по сравнению с неродственными детьми на любой стадии первого года жизни. Четкое доказательство связи между генной структурой макроорганизма и его микробиомом было получено на мышинных моделях [156]. Эти результаты расширяют наши знания о генетических факторах

макроорганизма, которые управляют сборкой кишечного микробиома. У генетически восприимчивых детей изменение состава микробиома, например, под воздействием параметров окружающей среды, может способствовать развитию расстройств здоровья, прежде всего, связанных с иммунитетом [156].

Таким образом, природой предусмотрен целый ряд факторов, способствующих заселению биотопов ребенка физиологической микрофлорой, усиливающей его адаптационные механизмы при переходе в новую, значительно более агрессивную среду обитания.

### **Связь микробиома ребенка с развитием иммунитета и других органов и систем**

Формирование микробиома младенца происходит в неразрывной связи с онтогенетическим развитием мукозального и системного иммунитета, физиологическим созреванием и развитием органов пищеварительной, нервной и эндокринной систем. Поэтому нормальный процесс заселения биотопов физиологической микробиотой, прежде всего, препятствует нарушениям в этих звеньях гомеостаза, а также предотвращает развитие патологии, ассоциированной с нарушением витаминного и минерального обмена, в частности рахита, железодефицитной анемии и др. [39,93,94,107,130,189,199,233,276].

Стимуляция, обеспечиваемая колонизацией физиологической микробиотой, необходима для развития полностью функционирующей и сбалансированной иммунной системы, включая не только хоминг В- и Т-клеток к lamina propria, распространение и созревание IgA-плазматических клеток и продуцирование IgA, но также индуцирование толерантности к безопасной пище и микробным антигенам [43,63,87,96,172,268,275].

Новорожденные и дети раннего возраста характеризуются транзитной иммунной недостаточностью, которая является биологической закономерностью, в основном относящейся к гуморальному иммунитету. Данная специфика иммунной системы в некоторой степени объясняет более частое возникновение стойких нарушений микробиома у детей первого года жизни по сравнению с детьми старшего возраста. Физиологическая недостаточность системы местного иммунитета кишечника в первые три месяца жизни ребенка в некоторой степени компенсируется поступлением защитных факторов с женским молоком,

в частности sIgA, лизоцима, лактоферрина, комплемента, пропердина, лактопероксидазы и др. [116,188,205].

Подготовка адаптивного иммунного ответа к микробной колонизации требует развития подмножества врожденных лимфоидных клеток, формирования лимфоидной ткани и создания условий для формирования мутуалистических отношений между макроорганизмом и его микросимбионтами.

Начальная микробная колонизация приводит к значительным изменениям мукозального и системного иммунитета. Созревание иммунной системы, которое инициируется еще на стадии плода, очень динамично и видоизменяется на протяжении первых месяцев после рождения и в детстве [184]. Новорожденные характеризуются низкой экспрессией совместно стимулирующих молекул, сниженной дифференциацией дендритных клеток, ослабленным фагоцитозом, слабо развитым взаимодействием между дендритными клетками, Т-лимфоцитами и регуляторными Т-клетками, а также слабой цитотоксической активностью Т-клеток [141,247]. Кроме того, активность материнского иммуноглобулина G, проникшего в плод трансплацентарно, приводит к дефициту у новорожденных специфических иммунных реакций, включая местный иммунитет слизистых из-за минимальных уровней IgA [129]. Эти особенности организма новорожденных убедительно подтверждены в опытах на животных. Так, например, установлено, что у стерильных мышей и мышей в первые дни микробной колонизации пейеровы бляшки имеют меньше размер, в lamina propria содержится сниженное количество клеток, а также более низкие уровни CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов [72,257]. Кроме того, в слизистой оболочке тонкого кишечника редко встречаются внутриэпителиальные лимфоциты и плазматические клетки, а уровни секреторного иммуноглобулина (sIgA) значительно снижены при подавленной экспрессии генов и маркеров активации кишечных макрофагов [72,176].

Исследования М. Gomez de Aguero и соавт. (2016) с использованием стерильных животных подтверждают существенное влияние материнской микробиоты на раннее постнатальное развитие врожденного иммунитета у потомства. В этом исследовании моноколонизация стерильных животных штаммом *E. coli* HA107 во время беременности влияла на численность врожденных кишечных лейкоци-

тов в раннем постнатальном периоде и увеличивала долю врожденных лимфоидных клеток (ILC) в тонком кишечнике и их общее число по сравнению со стерильным контролем, особенно клеток, относящихся к подмножеству NKp46<sup>+</sup>RORγ<sup>+</sup> ILC3 [90].

Проведенные в последние годы исследования с использованием экспериментальных животных помогли внести определенную ясность в понимание того, каким образом кишечная микробиота в пределах нескольких дней колонизации программирует слизистую оболочку кишечника для поддержания сбалансированного иммунного ответа [69,71,87]. Результаты этих исследований свидетельствуют о том, что в биологии макроорганизма на начальном этапе жизни происходят весьма обширные изменения в ответ на колонизацию микробиотой. Как отмечают S. El Aidy и соавт. (2016), макроорганизм сталкивается с антигенными стимулами, которые вызывают ответы, включающие активацию генов, ассоциированной с различными заболеваниями [73]. Поэтому аномальные сдвиги в процессе развития младенца в этой ранней быстро изменяющейся фазе могут иметь длительные последствия для состояния здоровья [58]. Исследователи предполагают, что в начале жизни имеется своеобразное критическое окно, в котором разрешена вся полномасштабная организация адекватного гомеостаза симбиоза макроорганизма с микробиотой. Нарушенные ответы на протяжении этого окна могут приводить к развитию патологии в дальнейшей жизни [44].

Большое значение в постнатальном периоде имеет процесс созревания пищеварительной системы, которая, подобно иммунной системе, должна быть подготовлена к формированию мутуалистических отношений с микробиомом. Исследования, проведенные с использованием экспериментальных животных, показали, что микробиота инициирует значительные изменения морфологии кишечника [235]. Эти изменения затрагивают архитектуру ворсинок, глубину крипт, пролиферацию стволовых клеток, плотность кровеносных сосудов, свойства слизистого слоя и созревание лимфоидной ткани, связанной со слизистой оболочкой.

У стерильных мышей ворсинки в дистальной части тонкой кишки длиннее и тоньше, чем у конвенциональных животных. Кроме того, при отсутствии микробиоты ворсинки характеризуются менее сложной сосудистой сетью, а кишечные крипты имеют меньшую глубину

и содержат меньше развивающихся стволовых клеток. У стерильных животных тоньше толщина слизи, а ее свойства изменены. У стерильных мышей также очень малое количество изолированных лимфоидных фолликулов, у них незрелые пейеровы бляшки и незрелые брыжечные лимфоузлы (MLN), а уровни иммуноглобулинов А (IgA), и антимикробных пептидов (AMP) ниже, чем у конвенциональных животных. У конвенциональных животных полисахарид А (PSA) из *Bacteroides fragilis* индуцирует распространение CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>-регуляторных Т-клеток (Treg), которые обладают противовоспалительным эффектом и подавляют иммунные ответы. И напротив, было показано, что сегментированные филаментные бактерии (SFB) индуцируют рост Т-хелперных 17 (TH17) клеток, которые оказывают провоспалительный эффект [235].

Микробиом играет критическую роль в продуцировании нутриентов и метаболизме макроорганизма и, таким образом, влияет на пищеварение, поглощение и запасание энергии. В дисбиотическом микробиоме в начале жизни может быть нарушен каждый из этих путей, которые связаны с развитием; незрелая микробиота не способна защитить кишечный барьер, что приводит к затуплению ворсинок, дегградации слизи, повышению проницаемости кишечника и нарушению иммунных ответов. Такие повреждения кишечника могут приводить к дисфункции среды кишечника, хроническому системному воспалению, инфекционным заболеваниям и диарее, и каждый из этих факторов может нарушать траекторию развития ребенка. Дисбиоз может также нарушать метаболизм ключевых нутриентов, включая незаменимые аминокислоты, нарушая, тем самым, нормальное развитие ребенка. При нарушенном составе кишечного микробиома может изменяться нормальное продуцирование гормонов роста [214].

Центральное место в функционировании микробиома кишечника и его взаимодействии с макроорганизмом занимают слизистые слои. Толщина слизи зависит от концентрации микробиоты, которая регулирует продукцию муцинов специализированными клетками кишечника. Эта зависимость хорошо заметна на примере тонкой и толстой кишки. Обязательная кишечная микробиота, которая в неонатальном периоде в основном представлена бифидобактериями, активно разлагает сложные О-связанные гликаны (муцины) и формирует пул короткоцепочечных жирных кислот

(КЦЖК), которые являются токсичными для многих патогенов, но для эпителиоцитов служат важным источником энергии и противовоспалительным фактором.

Эпителиальные клетки толстой кишки используют КЦЖК, особенно бутират, который на 60–70% обеспечивает их энергией, что способствует укреплению барьера слизистой оболочки [78]. КЦЖК также регулируют метаболизм глюкозы и липидов и иммунную функцию [177]. Бутират, действуя как ингибитор гистон-деацетилазы, участвует в эпигенетическом контроле за продуцированием и поддержанием уровня регуляторных Т-клеток [177].

Огромное значение имеет формирование полноценного кишечного барьера, в большой степени зависящего от микробиоты. Как известно, главная функция кишечного барьера заключается в регуляции поглощения нутриентов, электролитов и воды из просвета кишечника в кровотока и в предупреждении прохождения патогенных микробов и токсинов [131]. Важно принимать во внимание, что регуляция обмена молекулами между средой и макроорганизмом посредством кишечного барьера влияет на равновесие между толерантностью и иммунитетом к одному или нескольким антигенам. Эти функции поддерживаются благодаря ряду структурных особенностей, включая слизистый слой и монослой эпителиальных клеток, взаимосвязанных посредством плотных соединений. Слизистый слой, содержащий sIgA и антимикробные пептиды, покрывает выстилку из эпителиальных клеток. Он облегчает транспорт нутриентов и служит защитой от бактериальной инвазии [121]. Кишечный барьер находится в тесной и постоянной взаимосвязи с кишечной микробиотой, нарушение которой может иметь серьезные последствия для поддержания ключевых барьерных функций [17].

Непроницаемость для микробов внутреннего слизистого слоя обеспечивается высокой концентрацией противомикробных пептидов и секреторных иммуноглобулинов, а также белками плотных соединений.

Плотные соединения (*tight junctions*) — это сложные белковые структуры, состоящие из трансмембранных белков — клаудина, оккулина и трикуллина, которые соединяются с прилегающими плазматическими мембранами, образуя механическую связь между эпителиальными клетками и формируя, таким образом, барьер для прохождения между клетками [57]. Было показано, что структура кишеч-

ного барьера формируется у плода уже к концу первого триместра беременности [131]. Эпителиальные клетки с микроворсинками, бокаловидные и энтероэндокринные клетки появляются на 8-й неделе беременности, а плотные соединения обнаруживаются на 10-й неделе. Функциональное развитие кишечного барьера продолжается и после рождения, и на него значительное влияние оказывает диета [249]. Нарушение этого процесса, которое приводит к недоразвитию кишечного барьера, наблюдается у недоношенных детей, что предрасполагает к расстройству иммунитета. В начале жизни происходит перекрытие траекторий развития кишечной микробиоты и кишечного барьера. Кишечный барьер, действующий как защита, может быть модифицирован кишечной микробиотой или ее метаболитами. Механизм, лежащий в основе регуляции эпителиального барьера, весьма сложен и исследован только частично.

От состава микробиома зависит полноценность не только физического, но и психоневрологического развития ребенка. Изучением связи между развитием кишечника и мозга у младенцев является одной из областей современных исследований микробиома. Установлено, что ранняя колонизация микробиоты протекает параллельно с миграцией нейронов. Становление микробиома в течение первых 2-3-х лет жизни ребенка совпадает с критическими периодами роста мозга, миелинизации и синаптического очищения мозга. Поэтому оптимизация становления микробиома в раннем возрасте является важным фактором, способствующим физиологическому развитию мозга [108,209,223,256,269].

Таким образом, микробиомные процессы, происходящие в начале жизни, закладывают фундамент для формирования и поддержания здоровья ребенка. Поэтому необходимо совершенствование подходов к оптимизации условий для становления физиологического микробиома, регулирующего взаимоотношения между организмом и окружающей средой и способствующего оптимальной адаптации ребенка к внеутробным условиям жизни.

Любые изменения в становлении микробиома представляют собой серьезный риск развития заболеваний в раннем детском возрасте и хронизации многих из них в последующем.

#### **Нарушения микробиома и их связь с развитием патологии детского возраста**

В настоящее время все большее число специалистов рассматривают микробиом в каче-

стве модулятора заболеваний. В последние годы опубликован ряд работ, в которых достаточно подробно и убедительно описаны функциональные взаимосвязи нарушения микробиома (дисбиоза) с широким спектром патологических состояний у детей [3,4,18,137,160,187,199,207,216,32,214].

Если у взрослых и детей старшего возраста развитие дисбиотических нарушений обусловлено модификацией уже сформировавшегося микробиома, то у детей раннего возраста дисбиозы развиваются на фоне нарушения природных, весьма хрупких механизмов первичного становления микробиоты. Неонатальные микробиомные расстройства очень быстро хронизируются, и патологический микробиом, сформированный в раннем возрасте, в дальнейшем достаточно сложно поддается нормализации.

Поскольку становление микробиома младенца происходит в неразрывной связи с онтогенетическим развитием мукозального и системного иммунитета, при прогрессировании дисбиоза происходят нарушения не только в составе микробиоты, но и в ассоциированной с ней системе иммунного ответа на микробные антигены.

Дети, находящиеся на искусственном или раннем смешанном вскармливании, лишены защитных факторов женского молока. У таких младенцев значительно чаще наблюдается развитие дисбиозов, аллергии и другой патологии. Установлено, что атипичная колонизация кишечника в первые недели жизни младенца повышает восприимчивость его организма к иммунным и метаболическим болезням [149,188]. В частности, замена естественного питания ребенка введением искусственных смесей приводит к нарушению синтетической и обменной функций микробиоты и ухудшению снабжения эпителия кишечника трофическими и энергетическими субстратами. Модификация состава микробиома приводит к перегрузке несформированного иммунитета ребенка микробными антигенами, что может способствовать формированию неадекватного иммунного ответа, развитию воспаления и метаболических расстройств.

Поскольку ключевую роль в формировании микробиома младенца играет микрофлора матери, состояние микробиомной системы женщины является основным фактором, определяющим как становление у ребенка физиологического микробиома, так и развитие дисбиотических нарушений. Иммунологически незрелый организм новорожденного в неона-

тальном периоде, то есть в период наиболее активного формирования его собственной микробной экосистемы, оказывается полностью зависимым от функционирования индигенной микробиоты матери. Ее здоровая ротовая, вагинальная, кишечная, кожная микрофлора при поддержке иммунных, микробных и пребиотических факторов грудного молока, способствующих селективной пролиферации в биотопах ребенка наиболее физиологических для его организма микробов-симбионтов, способствует становлению у новорожденных физиологического микробиома и благополучной постнатальной адаптации их организма [4,14,16,18,19,88,188,198].

В то же время патологические изменения микробиома матери являются источником инфицирования ребенка микрофлорой, опасной для его здоровья. Это свидетельствует о необходимости ответственного отношения женщины и наблюдающего ее врача к состоянию микробиома с целью своевременного предупреждения развития или усложнения дисбиотических нарушений.

В связи с чрезвычайно сложным, мультифакторным и многоэтапным процессом физиологической микробной колонизации новорожденные и дети раннего возраста представляют наиболее уязвимый контингент населения относительно серьезности последствий расстройств микробиомного характера. Даже микрофлора здорового ребенка, получающего молоко матери, подвержена выраженной изменчивости. Однако при естественном вскармливании дети получают с женским молоком широкий спектр иммунных и микробиологических факторов защиты, оптимизирующих становление у них здорового микробиома и эффективной иммунной системы.

Огромный биологический потенциал микробиома и его уникальная роль в формировании и поддержании здоровья ребенка свидетельствует о необходимости усиления внимания ученых и практикующих врачей к вопросу оптимизации процесса становления микробной системы в пери- и постнатальном периодах и сохранения ее в здоровом состоянии в дальнейшем.

Серьезные изменения микробиома на раннем этапе его формирования являются наиболее опасными, поскольку могут привести к неблагоприятным последствиям не только в детском возрасте, но и на более позднем этапе жизни человека. В частности, высказано предположение, что повреждение микробиома

в раннем детском возрасте вследствие лечения антибиотиками значительно увеличивает риск развития воспалительных заболеваний кишечника в зрелом возрасте [198,226,230,258].

Чрезвычайно важно влияние факторов окружающей среды на интестинальную колонизацию детей, рожденных путем операции кесарева сечения. У этих младенцев, как показано в ряде исследований, отсрочено становление стабильной бифидофлоры, наблюдается высокий уровень условно-патогенных бактерий видов *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus haemolyticus* [15,17,228]. В результате такой микробной контаминации нарушаются процессы иммунологической адаптации, снижается защитный барьер кишечника и развивается воспаление.

Установлено, что формирование кишечного микробиома на ранних этапах роста малыша имеет большое значение в профилактике ожирения [228]. В некоторых исследованиях были идентифицированы различия в составе микробиома, связанные с весом тела [174]. Так, в лонгитудинальном исследовании, проведенном М. Kalliomaki и соавт. (2008) с помощью современных молекулярно-генетических методов (FISH) и проточной цитометрии, показана связь между снижением младенческих видов бифидобактерий у детей на первом году жизни и развитием ожирения у них в возрасте семи лет. Оказалось, что у детей с избыточной массой тела в возрасте 6 и 12 месяцев уровень младенческих видов бифидобактерий (*B. breve*, *B. infantis* и *B. longum*) был достоверно ниже, чем у детей с нормальной массой тела. Также у детей, развивших ожирение в семилетнем возрасте, уровень бактерий вида *Staphylococcus aureus* на первом году жизни был значительно выше по сравнению с детьми, которые к школьному возрасту имели нормальные показатели массы тела [127].

Физиологическое заселение биотопов ребенка микробиотой играет важную роль в предупреждении аллергии [95,105]. В ряде исследований описан состав микробиома у младенцев с развитыми аллергическими расстройствами [38,124,197].

Исследования А. Shreiner и соавт. (2008) показали заметные различия в составе кишечной микрофлоры здоровых и лиц с аллергией детского возраста [232]. Нормальная микрофлора тормозит процессы декарбоксилирования пищевого гистидина, уменьшая, таким образом, синтез гистамина, что снижает риск

пищевой аллергии у детей. Антиаллергические свойства полноценного микробиома дополняются мощной барьерной функцией приэпителиальной биопленки, препятствующей проникновению через кишечную стенку в кровотоки пищевых аллергенов и токсических веществ.

Проведенные эпидемиологические исследования показали более высокий риск развития аллергических заболеваний у детей, рожденных путем кесарева сечения [105]. Причиной этого может быть колонизация кишечника младенцев микрофлорой кожи либо госпитальной микрофлорой, например, условно-патогенными бактериями родов *Staphylococcus* и *Acinetobacter*, избыточные популяции которых нарушают нормальное становление иммунной системы. Также негативное значение имеет позднее начало грудного вскармливания младенцев и профилактическое назначение родильнице антибактериальных препаратов.

Несколько эпидемиологических исследований показали, что микрофлора атопических и неатопических младенцев различна. В исследовании М.А. Johansson и соавт. (2011) младенцы неаллергических родителей чаще были колонизированы лактобациллами, что свидетельствует о роли материнской микрофлоры в защите от аллергических заболеваний. Установлено, что в составе микробиома кишечника здоровых детей, как правило, преобладают бифидобактерии видов *B. longum* и *B. breve*, а у детей с экземой чаще наблюдается колонизация взрослого типа с доминированием вида *B. adolescentis*. У новорожденных с колонизацией кишечника бактериями видов *Staphylococcus aureus* и *Clostridium difficile* исследователи наблюдали развитие атопии в более позднем детстве [120].

Формирование кишечной микробиоты обеспечивает исходный и сильный источник стимулов для макроорганизма. Путь для первых аллергических реакций часто возникает в желудочно-кишечном тракте, и пищевая аллергия представляет собой обычную проблему у детей с атопической экземой. Нарушение барьерных функций в слизистой оболочке кишечника ведет к усиленному проникновению антигенов через мукозальный барьер и к изменению путей переноса. Это приводит к формированию искаженных иммунных ответов и высвобождению провоспалительных цитокинов с дальнейшим расстройством барьерных функций. Такое усиленное воспаленное состояние в свою очередь приводит к увеличению кишечной проницаемости,

и в результате получается порочный круг самоусиливающихся аллергических ответов и более стабильной дисрегуляции иммунных реакций в ответ на антигены у генетически восприимчивых индивидуумов.

Ведущей причиной неонатальной смертности и детской инвалидности являются преждевременные роды. Недоношенные новорожденные, отличающиеся незрелостью пищеварительного тракта и недостаточной подготовкой слизистых к заселению их физиологической микрофлорой, составляют группу повышенного риска по развитию некротического энтероколита, сепсиса, менингита и других серьезных заболеваний с высокой степенью летального исхода [137,159].

За счет осуществления ряда организационных мероприятий в системе охраны здоровья матери и ребенка, создания в родильных домах отделений реанимации и блоков интенсивной терапии и их оснащения современным оборудованием, удалось добиться значительного снижения показателя младенческой смертности. Но это породило новые сложные проблемы, связанные с широким использованием инвазивных диагностических и лечебных методов. В результате появились новые формы нозокомиальных инфекций, в частности бактериемии, ассоциированные с использованием катетеров, и пневмонии, развивающиеся после искусственной вентиляции легких.

У недоношенных детей намного выше риск развития осложнений после рождения, включая некротический энтероколит. Полагают, что фактором риска развития некротического энтероколита является нарушенная кишечная микробиота, способствующая повышенной восприимчивости недоношенных детей к системным инфекциям [37,53,61,180,182,192, 228,261].

Некротический энтероколит (NEC) — это опасное для жизни заболевание, вызывающее некроз кишечника, которое может поражать и другие органы, включая мозг, последствия чего еще серьезнее, чем повреждения пищеварительного тракта. NEC поражает 5–10% младенцев, которые родились с весом менее 1500 г. Несмотря на успехи в уходе за младенцами, это заболевание является фатальным приблизительно в 30% случаев [82] и ассоциируется с длительной интеллектуальной недееспособностью.

По данным M. Hallstrom и соавт. (2004), в составе кишечного микробиома новорожденных с NEC в большой концентрации содержались условно-патогенные микроорганизмы родов *Enterococcus* и *Candida*, которые, по мне-

нию исследователей, могут играть важную этиопатогенетическую роль в течении заболевания. Причем микробиом младенцев, рожденных преждевременно естественным путем, содержал намного меньшие популяции условно-патогенных микроорганизмов по сравнению с недоношенными детьми, рожденными методом кесарева сечения [99].

Достаточно эффективным средством профилактики NEC является грудное молоко, способствующее заселению кишечника полезной микрофлорой, оказывающей оздоровительную функцию на слизистую оболочку и повышающей защитную функцию организма.

Недоношенные дети часто рождаются путем кесарева сечения, получают антибиотики и могут иметь проблемы с кормлением. К тому же, недоношенные младенцы имеют функционально незрелый пищеварительный тракт с низким уровнем кислотности в желудке вследствие недостаточной секреции желудочного сока и требуют более частого кормления. Эти обстоятельства ведут к повышенному содержанию потенциально патогенных бактерий в желудочно-кишечном тракте и меньшему микробному разнообразию у таких детей по сравнению с доношенными детьми [27,48].

Низкая масса тела при рождении является важным фактором риска неонатальной смертности и развития различных заболеваний, что обусловлено незрелостью иммунной системы и барьерных механизмов желудочно-кишечного тракта младенцев, а также частым использованием инвазивных диагностических и лечебных процедур.

У недоношенных новорожденных, находящихся в отделениях интенсивной терапии, развивается особая микробная флора, которая значительно модифицирована в направлении повышения уровня условно-патогенных видов по сравнению с микробиотой доношенных младенцев. По данным J.C. Madan и соавт. (2012), в составе микробиома недоношенных новорожденных среди факультативных анаэробов преобладают стафилококки видов *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus aureus*, энтеробактерии рода *Klebsiella* и энтерококки, а среди облигатных анаэробов преимущественно встречаются клостридии [159].

При нарушении становления микробиома кишечника выделенный с желчью прямой билирубин подвергается ферментативному воздействию бета-глюкуронидазой кишечной стенки с образованием токсичного неконъюги-

рованного (непрямого) билирубина. Последний, всасываясь в кишечнике, поступает в кровоток и может увеличивать интоксикацию при желтухе, что особенно опасно у новорожденных при еще функционирующем венозном (аранциевом) протоке [188]. Также нарушаются процессы всасывания кальция и железа, синтеза многих витаминов (никотиновой и фолиевой кислот, тиамина, биотина, цианокобаламина, витаминов К, С), усвоения витаминов D и E.

Важно учитывать, что в случае дестабилизации микробиома происходит снижение его детоксикационной способности, что значительно увеличивает нагрузку на печень ребенка, может привести к повреждению гепатоцитов и развитию печеночно-билиарной патологии.

Серьезной проблемой неонатологии и педиатрии являются детские инфекции. Как известно, детский организм имеет большую восприимчивость к инфекционным факторам, так как существенно отличается от организма взрослого человека по структуре и функциям различных органов и систем, непрерывными морфофункциональными перестройками, связанным с развитием и ростом организма. Среди причин смертности у детей, по данным ВОЗ, на долю инфекционных болезней приходится около 63% [1,15].

Инфекционная патология плода и новорожденного заняла одно из ведущих мест в структуре заболеваемости и смертности в неонатальном периоде. Лечение новорожденных с перинатальными инфекциями антибактериальными препаратами, традиционно используемыми в неонатологии (преимущественно цефалоспорины и аминогликозидами третьего поколения), приводит к выраженным нарушениям процесса колонизации кишечника. При этом наблюдается заселение кишечника бактериями, обладающими устойчивостью к используемым антибиотикам (энтеробактериями, энтерококками, стафилококками и др.), а также грибами [11,12].

Условно-патогенные грибы рода *Candida*, которые значительно стимулируются медикаментозной терапией, особенно антибиотиками, часто становятся угрозой жизни недоношенных детей. Опасность неонатальных кандидозов заключается в высоком патогенном потенциале возбудителей, их способности вызывать у недоношенных детей сепсис и тяжелые неврологические заболевания [34,159,163,187].

Риск инвазивных микозных инфекций значительно выше у недоношенных детей с очень малой массой тела при рождении, которые

в комплексе интенсивной терапии получают антибиотики. С применением метагеномного анализа микробиома недоношенных новорожденных с малой массой тела установлена высокая концентрация в составе их кишечного биоценоза агрессивных видов грибов рода *Candida*, характеризующихся высокой инвазивной активностью [145,165].

В биоценозе детей с очень низкой массой тела после проведенной антибиотикотерапии отмечается бедное видовое разнообразие бактериальной флоры с преобладанием антибиотикорезистентных бактерий, в частности представителей видов *Staphylococcus aureus* и *Enterococcus faecium*, которые во многих случаях становятся этиологическим фактором развития сепсиса [159,161,180,218].

В настоящее время не существует ни одного антибактериального средства, которое действовало бы исключительно на патогенные микроорганизмы, не затрагивая индигенную флору. Ассоциированные с приемом антибиотиков нарушения микробиоценоза кишечника, сопровождающиеся снижением колонизационной резистентности организма, создают благоприятные условия не только для инфицирования больного экзогенными нозокомиальными штаммами, но и для повышения вирулентности условно-патогенных представителей аутофлоры.

Исследования группы ученых из Вагенингского университета (Нидерланды) показали, что использование антибиотиков у матери или ребенка препятствует формированию нормального микробиома, даже при наличии грудного вскармливания младенца. У этих детей в составе кишечной микрофлоры преобладали энтерококки, клостридии и эшерихии при полном отсутствии бифидобактерий [76].

Частое использование антибиотиков в детском периоде ассоциируется с повышенным риском устойчивости к антибиотикам [185], что, возможно, из-за изменений в микробиоме может predispose индивидуумов к повышенному риску заболеваний, включая ожирение [30] и воспалительные заболевания кишечника [270].

Антибиотикоассоциированная диарея (ААД) — еще один пример негативного воздействия антибиотиков на организм младенца. Этиологическим фактором ААД большинство исследователей считают клостридии, в частности вида *Clostridium difficile*. Эти микроорганизмы вызывают около 10–20% всех случаев ААД [23,64].

Французские ученые, основываясь на результатах своих исследований, пришли к выво-

ду, что к колонизации новорожденных кластридиями не всегда приводит антибактериальная терапия. Этими микроорганизмами насыщена сама госпитальная среда, которая в большинстве случаев является источником колонизации детей [80]. Напротив, по данным S. Matsuki и соавт. (2005), инфицирование новорожденного кластридиями в родильном доме происходит от матери. Установлено, что 50–70% новорожденных могут быть бессимптомными носителями вида *Clostridium difficile*, что связывают с низкой колонизационной резистентностью кишечника детей раннего возраста [169]. Прием антибиотиков может селективно увеличивать агрессивный потенциал кластридий и способствовать развитию болезни.

Установлено, что помимо *Clostridium difficile*, возбудителями ААД у новорожденных и детей раннего возраста могут быть и другие микроорганизмы, например представители видов *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella sp.*, *Klebsiella oxytoca*, грибы рода *Candida* и др. [228]. Причем, по данным Y.G. Kim и соавт. (2017), некоторые виды кластридий эффективно защищают пищеварительный тракт младенца от колонизации патогенами [133].

Эпидемиологические исследования, проведенные в Дании, однозначно свидетельствуют в пользу того, что применение в раннем детстве антибиотиков является неблагоприятным прогностическим фактором развития некоторых воспалительных заболеваний кишечника. 500 тыс. новорожденных были включены в проспективное длительное исследование, в течение которого учитывались число проведенных курсов и объем антимикробной терапии. Анализ результатов показал, что у младенцев, получавших антибиотики в первые годы жизни, в дальнейшем существенно возрастает заболеваемость болезнью Крона. Кроме того, этот риск увеличивается пропорционально количеству курсов антибиотикотерапии [112].

Несмотря на спасательные функции антибиотиков, имеются данные, что раннее и повторное использование антибиотиков, а возможно и других медикаментов, в детском возрасте является важным фактором, воздействующим на состав микробиома, что может повышать риск будущих заболеваний.

Состояние микробиома ребенка в значительной степени связано с риском развития в дальнейшем многих серьезных заболеваний, в частности хронических заболеваний кишечника, эндокринной, аутоиммунной, аллергиче-

ской и другой патологии. Особое внимание специалистов привлекают исследования связи микробиомных изменений у детей с развитием психической патологии. Например, с различиями в составе микробиома ассоциируют аутизм [108,209,223,245,278].

Известно, что мозг в детском возрасте обладает огромной метаболической способностью; он составляет 5–10% от общей массы тела, отвечает почти за 50% базовой метаболической энергии тела и поэтому особенно чувствителен к пониженному потреблению энергии [214]. Благодаря способности сообществ кишечной микробиоты регулировать количество поступающей энергии, микробиом может играть регуляторную роль в развитии нервной системы на протяжении первых лет жизни ребенка. Параллельное созревание как микробиома, так и ЦНС в начале жизни свидетельствует о возможности путем оптимизации микробиомных процессов способствовать физиологическому развитию нервной системы у детей [223,269].

Имеются сведения, что микробиом играет роль в иммунном ответе при вакцинации [63,279]. Более высокие относительные количества бактерий типов *Actinobacteria* и *Firmicutes* ассоциировались с более сильным гуморальным и клеточным ответом при введении вакцины, тогда как относительно высокие количества *Proteobacteria* и *Bacteroidetes* ассоциировались с пониженными ответами [102,109].

Результаты многочисленных исследований последнего десятилетия убедительно свидетельствуют о том, что становление у ребенка здорового микробиома является важнейшим фактором формирования нормальной иммунной системы и предупреждения многих хронических болезней. Поэтому мероприятия, направленные на оптимизацию микробиомных процессов в раннем детстве, вызывают все больший интерес у микробиологов, неонатологов и педиатров.

### **Современные подходы к оптимизации процесса формирования микробиома у детей и его поддержания**

Особое место среди средств, используемых для оптимизации становления здорового микробиома в раннем детском возрасте, занимают пробиотики.

Еще в XVIII веке в Нидерландах было предложено для кормления грудных детей, страдающих расстройством пищеварения, использовать сквашенную пахту. Позже появился ряд продуктов детского питания, которые целенаправленно

обогащались живыми клетками лактококков [31]. С развитием микробиологии и методов бактериальной терапии все возрастающее количество данных, подтверждающих благотворное воздействие лактобацилл и бифидобактерий на здоровье грудных детей, способствовало появлению широкого ассортимента продуктов детского питания, содержащих эти микроорганизмы [144].

В последние годы использование пробиотиков в неонатологии и педиатрии значительно расширилось. Появились результаты исследований, которые демонстрируют благоприятное влияние отдельных пробиотиков на течение ряда заболеваний кишечника, показана целесообразность их использования при диарее, пищевой аллергии и других видах патологии [8,12,15,37,53,135,140,180,237,258,281].

Несмотря на сложность и хрупкость процесса формирования постнатального микробиома, находящийся в стадии становления микробный орган новорожденного при использовании адекватной терапии значительно легче вернуть к нормальному процессу, чем восстановить уже сформировавшиеся микробиомы детей старшего возраста и взрослых.

Выбор пробиотика для новорожденных и детей раннего возраста играет ключевую роль в получении позитивного результата. «Детский» пробиотик должен обладать рядом биологических характеристик, прежде всего, убедительно доказанной безопасностью. С целью предупреждения отдаленных нежелательных результатов влияния на здоровье ребенка, следует воздержаться от рутинного использования многих пробиотиков, содержащих виды микроорганизмов, не типичные для базового состава микробиома ребенка, а также дополнительные ингредиенты немикробного происхождения. Важное значение имеет оптическая конфигурация молочной кислоты, образуемой при ферментации лактозы пробиотическими бактериями. Известно, что физиологичной для организма человека любого возраста является L(+)-молочная кислота. Напротив, D(-)-молочная кислота хуже переносится организмом человека, так как она сначала преобразуется под действием фермента дегидрогеназы D-2-гидроксикилот и только после этого ассимилируется организмом [19]. Поступление в организм ребенка D(-)-лактата вызывает опасность развития ацидозов, особенно у маленьких детей [208,209,252].

В настоящее время целесообразность использования пробиотиков для оздоровления

микробиома новорожденных и детей раннего возраста продемонстрирована результатами многочисленных исследований.

Наиболее часто в неонатологии и педиатрии используют пробиотики на основе сахаролитических бактерий родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, что, прежде всего, определяется непатогенным профилем этих микроорганизмов. Кроме того, пробиотики такого состава обладают рядом других полезных свойств. К ним, в частности относятся детоксикация ксенобиотиков [12,171], биосинтез витаминов [14,13,15,101], полезные метаболические эффекты [17,19,135,181], положительное влияние на транзит содержимого кишечника [170], конкуренция с патогенными микробами за нутриенты и сайты связывания [19,47], модуляция иммунного ответа [19,173].

Возрастающий интерес вызывает возможность использования пробиотиков для профилактики развития NEC, который является одной из основных причин смертности у недоношенных новорожденных с очень низкой массой тела при рождении [37,53,140,180,194,254]. Это заболевание быстро поражает слизистую оболочку кишечника и может стать основанием для удаления его части. Достаточно эффективным средством профилактики NEC является грудное молоко, способствующее заселению кишечника полезной микрофлорой, оказывающей оздоровительную функцию на слизистую оболочку и повышающей защитную функцию организма. Для усиления благоприятного воздействия грудного молока целесообразно энтеральное использование пробиотиков. У новорожденных, которые не получают грудного молока, профилактика развития NEC за счет обогащения рациона питания пробиотическими добавками, оптимизирующими процесс формирования здорового микробиома, является крайне необходимой. Многие исследования показали целесообразность использования пробиотиков для этой цели [53,89,140,147,157,194,217,218,224,254,255].

Метаанализ девяти рандомизированных плацебо-контролируемых исследований, в которые были включены 1425 недоношенных новорожденных, показал, что энтеральное введение пробиотиков значительно уменьшает количество случаев тяжелого NEC у детей и, кроме того, приводит к достоверному снижению смертности от этого заболевания детей с массой тела при рождении менее 1000 г [22]. Авторы исследования уверены в необходимости

широкого использования пробиотиков в профилактических целях у недоношенных детей.

Рандомизированное исследование, проведенное на Тайване среди 367 детей с очень низкой массой тела при рождении, показало, что ежедневное двукратное назначение пробиотика, содержащего штаммы видов *Lactobacillus acidophilus* и *Bifidobacterium infantis*, на фоне грудного вскармливания снижает частоту и тяжесть NEC [157].

В другом плацебо-контролируемом исследовании в перинатальном центре Shaare Zedek (Израиль) из 72 младенцев с очень низкой массой тела, получавших пробиотическую смесь, состоящую из представителей видов *Bifidobacterium infantis*, *B. bifidum* и *Streptococcus thermophilus*, у 3 (4%) был диагностирован NEC. В то же время в группе контроля, состоящей из 73 детей, находившихся на грудном или смешанном вскармливании, заболели 12 (16,4%) детей. При этом тяжелая форма NEC (стадия 2 или 3 по Bell) в пробиотической группе развилась у 1 ребенка из 72 (1%), а в группе контроля диагностировано 10 таких случаев среди 73 пациентов (14%) ( $P=0,013$ ) [37].

В обзоре, выполненном японскими учеными, суммированы данные клинических исследований, касающихся пользы от применения у недоношенных новорожденных пробиотического штамма *Bifidobacterium breve* M-16V [271]. Для оценки защитного эффекта данного пробиотического штамма в отношении профилактики развития NEC и других инфекционных заболеваний у недоношенных новорожденных было проведено клиническое исследование с участием 338 детей, родившихся с очень низкой массой тела (общая продолжительность исследования составила пять лет). Пациентам назначался пробиотик *B. breve* M-16V в дозе  $10^9$  КОЕ/сутки с первых часов после рождения, группу контроля составили 226 недоношенных детей, не получавших пробиотик. Как оказалась, частота NEC и общая частота инфекционных заболеваний была статистически достоверно меньше в группе применения бифидобактерий по сравнению с контролем [271].

G. Deshpande и соавт. (2007) на основании метаанализа рандомизированных контролируемых исследований показали, что профилактическое использование пробиотиков у недоношенных новорожденных снижает заболеваемость NEC на 30% [61].

Таким образом, результаты проведенных исследований убедительно свидетельствуют о том, что назначение пробиотиков на основе

физиологических бактерий является весьма эффективной мерой профилактики NEC и других инфекционных заболеваний у недоношенных новорожденных.

Показано позитивное влияние отдельных пробиотиков на динамику роста и веса детей. Например, в двойном слепом исследовании, выполненном с участием 105 младенцев в возрасте 0–2 месяца, было показано, что дети, которым давали молочную смесь, содержащую пробиотический штамм *Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC 53103 в концентрации  $10^7$  клеток/г, лучше росли и набирали вес по сравнению с детьми, которых кормили той же смесью, но без добавления пробиотика [248]. В другом исследовании было показано, что ферментированное молоко, содержащее лактобациллы вида *L. acidophilus* ( $10^8$  клеток/г), улучшало показатели роста и веса детей [221]. Авторы объясняют полученные данные увеличением конверсии пищи и, как результат, улучшением усвояемости пищевых ингредиентов.

Результаты плацебо-контролируемых исследований показали, что у доношенных новорожденных, получающих с первого дня жизни пробиотик, содержащий лактобациллы вида *Lactobacillus plantarum*, наблюдалась колонизация слизистых молочнокислыми бактериями, которые подавляли пролиферацию условно-патогенной грамотрицательной флоры, преобладающей у детей, получающих плацебо [213].

Доказана клиническая эффективность отдельных пробиотиков в лечении непереносимости лактозы [201], ААД [19,23,33,64,123], атопических заболеваний [77,114,122,124,125,126,211,240], ротавирусного гастроэнтерита у детей [195].

По данным метаанализа, проведенного G. Verpaola Aronte и соавт. (2013), пробиотики могут быть эффективными при хронической (персистирующей) диарее у детей. Включение пробиотиков на основе физиологических бактерий в схему лечения способствовало сокращению кратности стула и длительности заболевания. Неблагоприятных побочных эффектов используемых пробиотиков в исследовании не выявлено [36].

В Кокрановском систематическом обзоре [123] показана эффективность некоторых пробиотиков в профилактике развития ААД у грудных детей. Анализ 16 исследований, в которых участвовали 3432 ребенка, позволил сделать вывод, что дозы пробиотических бактерий выше  $5 \times 10^9$  клеток в сутки достоверно снижают риск развития ААД у детей грудного возраста.

Профилактический эффект в отношении острых кишечных заболеваний у младенцев в ряде исследований показали бифидосодержащие пробиотики [23,237]. Авторы подчеркивают штаммо- и дозозависимый эффект используемых препаратов.

Использование трехштаммовой пробиотической смеси показало повышение эффективности лечения детей раннего возраста, что выражалось в уменьшении остроты диареи и продолжительности пребывания детей в стационаре [605].

По данным L. Vitetta и соавт. (2014), использование пробиотиков при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, в генезе которых имело значение воспаление, в большинстве случаев оказывало положительный эффект [251]. По данным X.L. Liu и соавт. (2013), назначение пробиотиков детям раннего и дошкольного возраста снижало вероятность возникновения у них диареи [158].

В рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании с участием 742 госпитализированных детей I. Hojsak и соавт. (2010) показали снижение риска внутрибольничных инфекций желудочно-кишечного тракта и дыхательных путей в группе детей, получавших ежедневно пробиотический штамм вида *Lactobacillus rhamnosus* в 100 мл кисломолочного продукта [104]. В другом рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании, проведенном S. Szazawal и соавт. (2010) с участием 624 детей 1–4 лет, в группе детей, получавших с молоком в течение года культуру *Bifidobacterium lactis*, показано снижение заболеваемости дизентерией и респираторными инфекциями нижних дыхательных путей [225]. По данным систематического обзора J.A. Applegate и соавт. (2013), включение пробиотиков в терапию острой диареи у детей младше пяти лет сокращало длительность диареи и кратность стула, начиная со второго дня заболевания [26]. По данным N. Phavichitr и соавт. (2013), использование пробиотика на основе представителей видов *Lactobacillus acidophilus* и *Bifidobacterium bifidum* в терапии детей, госпитализированных в стационар по поводу острой диареи, сокращало сроки их госпитализации [202]. Метаанализ H. Szajewska и соавт. (2013), в котором было проанализировано 15 рандомизированных клинических испытаний с участием 2963 детей с острым гастроэнтеритом, показал, что включение в терапию пробиотического штамма

*Lactobacillus rhamnosus* (LGG) снижало длительность диареи [238].

Показано, что отдельные пробиотики на основе лактобацилл способны уменьшить риск гастроинтестинальной колонизации грибами рода *Candida* и позднего сепсиса у недоношенных новорожденных, находящихся в отделении интенсивной терапии. Дети, принимающие пробиотики, характеризовались также меньшей частотой неврологических нарушений на первом году жизни по сравнению с контрольной группой [215].

Все больше появляется данных о более высокой эффективности поливидовых пробиотиков. Клинические исследования показали, что они оказались более действенными при лечении детей с ААД [242].

Согласно современным рекомендациям, все больные, получающие антибиотики, должны пройти курс пробиотической профилактики. Бесспорно, данные рекомендации должны основываться на результатах экспериментального и клинического изучения чувствительности пробиотических микроорганизмов к различным антибактериальным препаратам. В некоторых исследованиях показано, что прием пробиотика на основе молочнокислых бактерий способен предотвратить снижение популяций кишечных лактобацилл, связанное с применением антибиотиков [33,103,140,204,243,282]. В других сообщениях подчеркивается, что одновременный прием антибиотиков с пробиотиками возможен только с учетом резистентности пробиотических микроорганизмов к используемым антибактериальным препаратам. В этом отношении более эффективными являются поливидовые пробиотики [1,138,175].

На базе кафедры детских инфекций Национального медицинского университета имени А.А. Богомольца проведено исследование, в котором изучали эффективность включения отечественного мультипробиотика «Симбитер<sup>®</sup>» в комплексное лечение детей с инфекционной патологией (гнояный менингит, лакунарная ангина, пневмония). Контрольной группе детей (n=36) назначали стандартную терапию основного заболевания, в том числе и антибактериальные средства (пенициллин, цефтриаксон, цефотаксим). Основная группа (n=34) дополнительно получала мультипробиотик «Симбитер<sup>®</sup>», который отличается резистентностью к наиболее распространенным антибактериальным средствам. Препарат назначался на весь период антибиотикотера-

пии и в течение 10 дней после ее отмены. Применение мультипробиотика «Симбитер®» позволило уменьшить выраженность основных побочных симптомов антибиотикотерапии со стороны желудочно-кишечного тракта (диарея, боль в животе, метеоризм, рвота), что позволило авторам исследования сделать вывод о целесообразности его включения в комплексную терапию инфекционных заболеваний [1].

Частой проблемой у детей первых месяцев жизни являются кишечные колики. В подавляющем большинстве случаев колики возникают вследствие приспособления желудочно-кишечного тракта ребенка к новым условиям [266]. Поскольку при частых коликах у детей выявляются нарушения в становлении кишечной микробиоты, предлагается введение в рацион пробиотических смесей [231].

Исследование итальянских ученых из Туринского университета показывает позитивное воздействие отдельных пробиотических лактобацилл на состояние новорожденных и детей первых месяцев жизни при кишечных коликах. Похожие результаты показали и другие исследования [98,113]. Так, пробиотики на основе молочнокислых бактерий, наряду с уменьшением интенсивности кишечных колик, уменьшали частоту срыгиваний и рвоты, благоприятно влияли на перистальтику кишечника недоношенных новорожденных.

F. Savino и соавт. (2007) было установлено, что в кишечной микрофлоре детей, страдающих коликами, в гораздо меньшем количестве содержатся молочнокислые бактерии и чаще встречаются анаэробные грамотрицательные прокариоты. Семидневный курс использования лактобациллярного пробиотика в рандомизированном слепом проспективном исследовании показал значительное снижение симптомов проявления колик у 95% младенцев по сравнению с контрольной группой детей, где только 7% ответили на терапию симетиком ( $p < 0.001$ ) [224].

Исследования показали, что грудное вскармливание и добавление пробиотиков на основе бифидобактерий может поддержать оптимальный состав микробиома кишечника и улучшить ответ на вакцины в раннем детском возрасте. Установлено, что дисбиозная микробиота путем модификации механизмов развития Т-лимфоцитов может непрямым образом изменять ответ на введение вакцин. M.N. Huda и соавт. (2014) подчеркивают, что пробиотики при вакцинации особенно полезны детям

раннего возраста, которые подвержены частым инфекционным заболеваниям, госпитализациям и назначению антибиотиков, повреждающих микробиом ребенка [109].

Результатами отдельных исследований продемонстрировано, что преобладание бифидобактерий в составе микробиома кишечника у детей раннего возраста может стимулировать развитие вилочковой железы и иммунологические ответы как на пероральные, так и на парентеральные вакцины. В то же время уменьшение количества бифидобактерий и увеличение популяций условно-патогенных микроорганизмов способствует возникновению системного воспаления, развитию иммуносупрессии и менее выраженному ответу на введение вакцин [109,175].

Одной из важнейших медицинских проблем остается предупреждение развития у детей аллергических заболеваний. Клинические испытания, касающиеся профилактики аллергии с помощью пробиотиков, оказались успешными.

Предполагается, что предрасположенность ребенка к аллергии определяется физиологичностью микробиома. A. Shreiner и соавт. (2008) показали заметные различия в составе кишечной микрофлоры здоровых и лиц с аллергией и возможность облегчения проявлений аллергии при использовании некоторых пробиотиков [232].

Рядом исследований показана возможность профилактики развития атопических заболеваний у младенцев путем приема пробиотиков как матерью в период беременности, так и ребенком после его рождения [67,122,135, 196,210].

Показано, что противоаллергическая эффективность пробиотиков значительно повышается у детей, получающих грудное молоко, особенно если пробиотики принимали также их матери в периоды беременности и грудного кормления [67]. Женское молоко содержит важные иммунорегуляторные факторы, например TGF- $\beta$  и IgA, которые могут защищать младенца от развития аллергических заболеваний [212]. Биологические механизмы, ответственные за такие свойства грудного молока, изучены еще недостаточно и требуют дальнейших исследований.

В комбинированных исследованиях с пренатальным и постнатальным применением пробиотиков наблюдалось значительное уменьшение общего проявления экземы и/или IgE-ассоциированной экземы в 6 из 9 опубликованных рандомизированных клинических исследованиях, выполненных с участием детей в возрасте до двух лет [67,124,

132,142,186,263]. В трех исследованиях таких эффектов не наблюдалось [21,111,139].

В проведенном в 2012 г. метаанализе было обнаружено значительное уменьшение риска заболевания экземой у детей 2–7-летнего возраста при использовании женщинами во время беременности пробиотических лактобацилл по сравнению с плацебо и пробиотиками другого состава [65].

В двух других исследованиях с использованием различных пробиотических смесей получено уменьшение случаев экземы через год [132] и через три месяца соответственно [186].

К. Wickens и соавт. (2008) исследовали эффект двух видов пробиотиков по отношению к плацебо и показали, что штамм *L. rhamnosus* HN001 значительно снижал случаи экземы и IgE-ассоциированной экземы на втором году, однако он не влиял на состояние сенсibilизации [264].

По данным S.I. Woo и соавт. (2010), 12-недельный прием *L. Sakei* KCTC 10755BP маленькими детьми также приводил к понижению SCORAD (scoring of atopic dermatitis — шкала атопического дерматита) и уменьшению активности заболевания в три раза по сравнению с детьми, которым давали плацебо [265].

Анализ результатов известных исследований подтверждает значительные различия пробиотиков относительно их биологической активности. Следовательно, при планировании клинических испытаний необходим тщательный анализ не только видового, но и штаммового состава пробиотиков.

Необходимо отметить, что, несмотря на положительный эффект ряда пробиотиков, некоторые исследователи наблюдали также увеличение случаев астма-подобных симптомов через два года [139] и через семь лет после завершения приема пробиотиков [126]. Это указывает на то, что было бы очень важно наблюдать за испытуемыми группами на протяжении нескольких лет с целью выяснения длительности влияния пробиотиков на состояние здоровья детей.

При применении пробиотического штамма *L. paracasei* F19 было получено уменьшение общих случаев экземы после 13 месяцев [260]. В целом эти исследования позволяют утверждать, что одно только постнатальное применение пробиотиков может быть недостаточным для понижения частоты клинических симптомов аллергических заболеваний и свидетельствуют, что ранний период жизни, когда можно оказывать влияние на микробиом и иммунную функцию, начинается еще до рождения.

Из-за различий в построении исследований весьма трудно получить значимые выводы. Очевидно, что одного только пренатального применения пробиотика недостаточно — его необходимо использовать также и в постнатальный период.

F. Campeotto и соавт. (2011) показали эффективность ферментированной пробиотической формулы на основе культур *Bifidobacterium brevis* и *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* у недоношенных детей. После двухнедельного кормления пробиотиком младенцев с гестационным возрастом 30–35 недель авторы отметили уменьшение провоспалительных маркеров, связанных с некоторыми особенностями желудочно-кишечной толерантности [46].

По данным P. Van Baarlen и соавт. (2009), пробиотик на основе лактобацилл вида *Lactobacillus plantarum* индуцирует толерантность к пищевым аллергенам за счет инициации пути AhR-сигнализации в пределах слизистой оболочки [246].

Появляется все больше обнадеживающих результатов исследований, подтверждающих целесообразность использования пробиотиков для профилактики у детей респираторных заболеваний. Двойное слепое плацебо-контролируемое рандомизированное исследование проводилось с 1 декабря 2000 г. по 30 сентября 2002 г. в 14 центрах по уходу за ребенком в области Беэр-Шева (Израиль). В исследования были включены здоровые доношенные дети возрастом от 4 до 10 месяцев. Продолжительность наблюдения для каждого участника составила 12 недель. Использование пробиотиков на основе лактобацилл и бифидобактерий показало значительное снижение частоты заболеваемости детей респираторной патологией, сокращение продолжительности болезни и позволило уменьшить дозу применяемого в терапии антибиотика [259].

Модуляция микробиоты предлагалась в качестве превентивного средства против обычных простудных и гриппозных симптомов у детей [155,274]. В двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании 326 детей в возрасте от 3 до 5 лет рандомизированно получали дважды в день на протяжении шести месяцев пробиотический штамм *Lactobacillus acidophilus* (n=110), или смесь штаммов *L. acidophilus* и *B. animalis lactis Bi-07* (n=112), или плацебо (n=104). К концу исследования было обнаружено, что по сравнению с группой плацебо у детей, получавших одноштаммовый или ком-

бинированный пробиотик, наблюдалось значительное снижение частоты и длительности состояний с повышенной температурой, кашля и ринореи [155].

В рандомизированном контролируемом испытании показано улучшение мукозального иммунитета и снижение частоты и тяжести кишечных и респираторных заболеваний у детей, принимающих йогурт, содержащий пробиотический штамм *L. rhamnosus* CRL1505. Частота инфекционных заболеваний уменьшилась с 66% в плацебо-группе до 34% в группе, которая получала йогурт с пробиотиком. При этом наблюдалось также значительное уменьшение показателей тяжести заболеваний, таких как лихорадка и необходимость применения антибиотиков, у детей, получавших пробиотический йогурт [250].

Еще одно рандомизированное клиническое исследование с участием 110 здоровых детей в возрасте от одного месяца до четырех лет, показало профилактическую эффективность мультипробиотика «Симбитер» относительно заболеваемости детей сезонными респираторными заболеваниями. Установлено, что трехмесячный курс приема мультипробиотика уменьшает тяжесть ОРВИ у детей и длительность основных симптомов болезни, снижает вероятность развития осложнений ОРВИ и необходимость назначения антибактериальных препаратов [2].

По данным А.М. Deasy и соавт. (2015), применение пробиотиков на основе нейссерий вида *Neisseria lactamica* в форме капель для носа уменьшает колонизацию возбудителем менингита *Neisseria meningitidis*. Ученые предполагают, что установленные эффекты реализуются за счет механизмов конкурирующих взаимоотношений микроорганизмов либо врожденных иммунных ответов, которые срабатывают при наличии необходимых симбионтов [60].

Лечение с изменением состава микробиома, включая фекальную трансплантацию и использование пробиотиков, давало улучшение некоторых симптомов у детей с аутизмом [128,219].

Учитывая многочисленные результаты исследований, перспективы использования пробиотиков для профилактики и устранения дисбиотических нарушений у детей в настоящее время вызывают возрастающий интерес. Вместе с тем вопрос о профилактическом использовании пробиотиков в неонатологии все еще бурно дискутируется.

В частности, существует мнение, что назначение пробиотических препаратов практически

здоровым новорожденным является нецелесообразным, поскольку может препятствовать приживлению физиологических штаммов матери. Однако необходимо учитывать, что сразу же после рождения ребенок попадает в мир, плотно заселенный условно-патогенными микроорганизмами, среди которых особую опасность для его здоровья представляют госпитальные штаммы. Если у взрослого человека большая часть экзогенной микрофлоры погибает за счет активности механизмов специфической и неспецифической защиты, организм новорожденного менее защищен от внешней микробиологической атаки. Поэтому значительная часть попадающих в его организм микробных клеток имеет шанс выжить и нарушить механизмы формирования микробиома.

Основная защита организма новорожденного — это контакт с телом здоровой матери и естественное вскармливание. В современных условиях данный превентивный механизм в большинстве случаев не является достаточно эффективным. Об этом свидетельствует, в частности, тот факт, что если ранее фаза транзитного дисбиоза у здоровых новорожденных длилась 6–8 суток, то в настоящее время этот процесс продолжается не менее месяца, а иногда достигает 2–3 лет [4].

В неонатальном возрасте, характеризующемся максимальным напряжением всех адаптивных реакций организма, чрезвычайно значение имеют спектр контактирующей с ним микрофлоры и степень ее агрессивных свойств. Легко уязвимый организм новорожденного подвержен высокому риску колонизации госпитальными штаммами потенциальных патогенов и внедрению их в состав приэпителиальных биопленок. Образующиеся при этом «дефектные» биопленки отличаются высокой устойчивостью, способствуют развитию и хронизации патологических процессов не только в пищеварительном тракте, но и в других органах и системах [7,8,13].

Традиционное использование при неонатальных инфекциях антибактериальных препаратов еще больше усложняет процесс формирования полноценного микробиома, поскольку повышает селективные преимущества условно-патогенной флоры за счет пролиферации антибиотикорезистентных бактериальных клонов. Кроме того, возникает опасность развития кандидомикозов, псевдомембранозного энтероколита и других осложнений.

Поэтому пробиотическая оптимизация процесса формирования микробиома у новорож-

денных, в том числе недоношенных детей, является одним из эффективных подходов к их благополучной постнатальной адаптации.

Существующие до настоящего времени разногласия относительно эффективности пробиотиков у новорожденных в различных клинических ситуациях в значительной степени обусловлены использованием в исследованиях препаратов разного состава. Несмотря на сложившееся общее мнение о целесообразности использования пробиотиков, клинический эффект ряда препаратов не доказан, а механически переносится с других препаратов сходного видового состава. Это недопустимо, поскольку среди огромного многообразия штаммов внутри каждого вида микроорганизмов лишь немногие из них обладают высокой пробиотической эффективностью.

Таким образом, лечебное и профилактическое использование в неонатологии и педиатрии пробиотиков на основе физиологических бактерий является одним из перспективных методов оздоровления детской популяции населения. Безопасность, простота и атравматичность применения привлекает все большее число специалистов к методам пробиотической терапии и профилактики. Вместе с тем широкое внедрение «детских» пробиотиков в практику требует дальнейших исследований по оптимизации их применения.

Помимо пробиотиков, для оздоровления микробиома детей могут использоваться пребиотики, ферментированные молочные продукты и некоторые энтеросорбенты.

Пребиотики — это компоненты пищи, преимущественно олигосахариды, которые, из-за своей структурной организации, не перевариваются в тонком кишечнике и ферментируются в толстой кишке анаэробными сахаролитическими бактериями, способствуя повышению их популяции в составе микробиома. Очевидно, что основная роль в реализации положительных эффектов пребиотиков принадлежит КЦЖК.

Вызывает интерес вопрос целесообразности использования пребиотиков в составе детских смесей. По данным S. Faupio и соавт. (2005), комбинация галактоолигосахаридов (GOS) и фруктоолигосахаридов (FOS), в соотношении, близком к их составу в женском грудном молоке, может стимулировать рост бифидобактерий и влиять на распределение отдельных видов среди кишечной микрофлоры, а также изменять pH фекалий и уровни продуцирования КЦЖК, приближая их концентрации

к таковым в кишечнике младенца, находящегося на грудном вскармливании [75].

M. Haarman и J. Knol (2005), используя аналогичную пребиотическую смесь у детей с аллергией, показали ее способность индуцировать бифидный видовой состав микробиома, свойственный здоровым детям, вскармливаемым грудным молоком [97].

Установлено также, что пребиотики, наряду с другими средствами оздоровления микробиома, играют положительную роль в работе иммунной системы новорожденного и защищают организм от патогенов [42,222].

Значительный интерес вызывает использование с целью оздоровления микробиома комплексов пробиотиков с пребиотиками — *синбиотиков*. Многие специалисты полагают, что пребиотики, синергически взаимодействуя с пробиотиками, оказывают положительное воздействие на состояние микробиома и здоровье кишечного тракта.

В исследовании K.G. Wu и соавт. (2012) лечение детей, страдающих экземой (от умеренной до тяжелой), комбинацией лактобациллярного штамма вида *L. salivarius* и FOS на протяжении восьми недель приводило к значительному уменьшению тяжести заболевания по сравнению с детьми, получавшими только FOS, однако в этом исследовании не было плацебо-группы, необходимой для базисного сравнения [267].

Польза для детского питания ферментированных молочных продуктов доказана многочисленными исследованиями. В частности, показано, что регулярное потребление в пищу пробиотических продуктов приводит к быстрому восстановлению физиологического микробного баланса в биотопах пищеварительного тракта, способствует лечению при язвенных болезнях, колитах, острых кишечных инфекциях, улучшает состояние больных с метаболическими нарушениями.

К группе средств оздоровления микробиома следует отнести некоторые виды энтеросорбентов. Механизм их действия в большой степени обусловлен санацией просвета кишки и улучшением за счет этого условий для жизнедеятельности физиологической микрофлоры.

Энтеросорбция является неинвазивным методом эфферентной терапии и при выборе адекватного сорбента может способствовать эффективному очищению организма от аллергенов, медиаторов, продуктов аллергической или воспалительной реакции, метаболитов, токсинов, активных перекисных соединений, вирусов

и других соединений. Оздоровление биотопов оптимизирует условия для функционирования физиологического микробиома [6,9,19].

В настоящее время существует огромный ассортимент энтеросорбентов различной природы, однако не все они являются эффективными при нарушениях микробиома, особенно у детей.

Перспективными для использования в педиатрии являются энтеросорбенты на основе глинистых минералов, например смектитов, которые отличаются мелкими частицами и способностью формировать гели, обладающие цитомукопротекторными свойствами. Смектиты обладают высокими адсорбционными, влагоудерживающими и ионообменными свойствами [6,9]. Огромный интерес вызывает их способность к сорбции кишечных вирусов, что объясняет высокую эффективность при энтеровирусных инфекциях [9,239]. Установлено, что смектит подавляет инфекционность 90% инокулята ротавируса при минимальной концентрации через минуту после их контакта [239].

Проведенный авторами цикл фундаментальных исследований привел к созданию нового поколения эффективных энтеросорбентов серии «Симбиогель®», которые удивительно результативно вписались в комплексную схему оздоровления микробиома у детей. При использовании энтеросорбентов этой серии происходит эффективная санация пищеварительного

тракта, улучшение структуры защитного слизистого слоя кишечной стенки, оптимизация условий для активной жизнедеятельности физиологических бактерий.

### Заклучение

Многочисленные исследования, проведенные в последние два десятилетия, не оставляют сомнений в том, что микробиом вносит весьма весомый вклад в формирование и поддержание здоровья ребенка. Он участвует в жизненно важных физиологических процессах, берущих свое начало от момента зачатия, и направляет развитие детского организма. Огромный биологический потенциал микробиома и его уникальная роль в формировании и поддержании здоровья ребенка свидетельствует о необходимости усиления внимания ученых и практикующих врачей к вопросу оптимизации процесса становления микробной системы в пери- и постнатальном периодах и сохранения его в здоровом состоянии в дальнейшем. Поскольку аномалии в структуре микробиома ассоциируют с широким спектром заболеваний, оптимизация его формирования и оздоровления в раннем возрасте является чрезвычайно важным фактором в улучшении здоровья детей и взрослых.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

## REFERENCES/ЛИТЕРАТУРА

Список літератури наведений у англomовній версії статті.

### Відомості про авторів:

**Янковський Дмитро Станіславович** — д.б.н., проф., генеральний директор НВК «О.Д. Пролісок». Адреса: Київська обл., Васильківський район, с. Велика Вільшанка, вул. Софіївська, 17-а.

**Широбоков Володимир Павлович** — акад. НАН і НАМН України, д.мед.н., проф., зав. каф. мікробіології, вірусології та імунології НМУ імені О.О. Богомольця. Адреса: м. Київ, просп. Перемоги, 34.

**Димент Галина Семенівна** — к.тех.н., директор наукового центру НВК «О.Д. Пролісок». Адреса: Київська обл., Васильківський район, с. Велика Вільшанка, вул. Софіївська, 17-а.