

## ПРОБИОТИКИ В ПИТАНИИ ГРУДНЫХ ДЕТЕЙ: РАЗВИТИЕ ИММУНИТЕТА И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ АЛЛЕРГИИ

**О.К. Нетребенко, профессор**

Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова

E-mail: olga.netrebenko@ru.nestle.com

**Рассмотрены данные современных исследований о связи состояния кишечной микробиоты с риском развития иммуноопосредованных заболеваний у детей.**

**Ключевые слова:** дети, кишечная микробиота, пробиотики, «болезни цивилизации».



В последние годы внимание исследователей направлено на изучение роли кишечной микробиоты (КМ) в сохранении здоровья человека. Этот интерес связан с развитием новых технологий изучения микробиома человека, разработкой новых методов определения бактерий (рибосомальная ДНК, РНК бактерий, флуоресцентная гибридизация и др.), а также с появлением новых данных о влиянии КМ на риск развития аллергии, ожирения, диабета, сердечно-сосудистых заболе-

ваний и ряда других «болезней цивилизации». Учитывая, что в основе всех этих заболеваний лежит процесс хронического воспаления, следует предположить возможность тесной связи иммунных и метаболических процессов.

Становление иммунной системы (приобретенного иммунитета) начинается с рождения и тесно связано с колонизацией организма новорожденного ребенка. КМ поддерживает адекватное состояние врожденного иммунитета и способствует развитию приобретенного иммунитета (Dimmitt R. и соавт., 2010). На модели животных гнотобионтов хорошо изучено действие микробиоты на отдельные звенья иммунного ответа. Доказано, что здоровая КМ способствует продукции IgA, повышает целостность кишечного барьера и увеличивает пролиферацию клеток кишечного эпителия. Контакты КМ с дендритными (и другими антиген-презентирующими) клетками реализуют толерогенную направленность иммунного ответа и снижают продукцию провоспалительных цитокинов. Последние работы в этом направлении доказы-

вают, что здоровая КМ предотвращает избыточную активацию ядерного фактора и снижает продукцию провоспалительных цитокинов (Lakhadagi O. и соавт., 2011).

Формирование адекватного иммунного ответа на собственную микрофлору – один из решающих факторов развития пищевой толерантности. Особую роль в развитии иммунитета младенца играют бифидобактерии. В отличие от патогенов и других кишечных бактерий именно бифидобактерии наиболее активны в переключении поляризации Th (Т-хелперных) лимфоцитов из направления Th2, характерного для внутриутробного периода, в направление Th1. Еще раз отметим важную роль в развитии толерантности первого контакта бифидобактерий с основными антиген-презентирующими клетками кишечника младенца – дендритными клетками.

Нарушения нормальной колонизации кишечника у новорожденного и их последствия широко обсуждаются в современной медицинской литературе. Характер КМ новорожденного зависит от КМ матери, характера родоразрешения, использования антибиотиков, характера вскармливания.

### Микробиота матери

Первичная колонизация кишечника новорожденных происходит под влиянием кишечной, вагинальной, кожной флоры матери и грудного молока. Последнее содержит штаммы бактерий, транслоцированные из кишечника матери. То есть состав материнской КМ может оказывать влияние на формирование микробиоты ребенка.

Анализ состава КМ беременных женщин показал, что в кишечнике женщин с нормальным индексом массы тела (ИМТ) достоверно больше бифидобактерий и бактероидов, чем у женщин с избыточной массой тела, и меньше энтеробактерий, стафилококков и кишечной палочки. По данным M. Collado и соавт. (2008), более высокий (>25) ИМТ женщин коррелировал с повышенным количеством клостридий, бактероидов и стафилококков, и их количество нарастало к третьему триместру беременности. При этом бифидобактерий у женщин с избыточной массой тела было меньше, чем у стройных.

Интересно отметить, что вне зависимости от массы тела женщины до наступления беременности изменения КМ у женщин с разной прибавкой массы тела во время беременности различались. Долговременное наблюдение за детьми женщин с высокой прибавкой массы тела во время беременности показало, что у них повышен риск развития ожирения.

У женщин с высокой прибавкой массы тела снижалось количество бифидобактерий и повышалось количество кишечной палочки в стуле в сравнении с таковым у женщин с нормальной прибавкой массы тела. Новорожденные от матерей с избыточной массой тела имели также большую массу тела, чем новорожденные от матерей с нормальной массой тела. Поскольку материнская микробиота при родах передается младенцу, закономерно предположение, что снижение количества бифидобактерий может наблюдаться и у младенца, что впоследствии может привести к развитию избыточной массы тела. Действительно, в работе М. Kalliomaki и соавт. (2008) показано, что у детей со сниженным количеством бифидобактерий на 1-м году жизни выше риск развития ожирения к 7-летнему возрасту. У них в младенчестве был выше уровень стафилококков, что соответствует его повышенному уровню у беременных с избыточной массой тела и у женщин с высокой прибавкой массы тела во время беременности.

Исследования А. Santacruz (2010) также показали, что избыточная масса тела и ожирение в период беременности изменяют состав КМ. Автор наблюдал 2 группы беременных: с ИМТ > 25 кг/м<sup>2</sup> и ИМТ < 25 кг/м<sup>2</sup>. У женщин с избыточной массой тела был повышен уровень триглицеридов и общего холестерина и снижен уровень фолиевой кислоты и железа. По некоторым данным, ожирение у женщины считается фактором риска развития дефекта нервной трубки. Возможно, это связано со снижением содержания бифидобактерий в микробиоте женщин с ожирением, так как есть данные, что именно бифидобактерии синтезируют и секретируют фолиевую кислоту. Повышение уровня бифидобактерий коррелировало с повышением уровня фолиевой кислоты.

Таким образом, при избыточной массе тела и ожирении у матери ребенок, проходя по родовым путям, не получает адекватного количества бифидобактерий, а колонизируется менее благоприятной микрофлорой. Важно отметить, что у детей в возрасте 6 мес, родившихся от матерей с повышенным ИМТ, наблюдалось снижение уровня бифидобактерий в стуле в сравнении с таковым у детей, родившихся от здоровых матерей. Кроме того, у матерей с избыточной массой тела и ожирением наблюдаются также достоверные изменения в составе микробиома грудного молока.

## Антибиотикотерапия и кишечная микробиота

Активное использование антибиотиков, начавшееся в середине XX столетия, имеет ряд еще не до конца изученных последствий, связанных в основном с состоянием микробиома человека. Одно из последствий антибиотикотерапии – появление антибиотикорезистентных штаммов бактерий, которые могут достаточно долго персистировать в кишечнике человека. По данным Н. Jacobsson и соавт. (2010), гены резистентности к макролидам сохраняются в КМ на протяжении 4 лет после лечения. В работах, изучающих влияние антибиотикотерапии на состав и структуру КМ, показано, что антибиотики с сильным противоанаэробным действием уже через 7 дней вызывают снижение разнообразия бактериоидов и эти нарушения сохраняются на протяжении минимум 2 лет. Исследование действия антибиотиков группы цефалоспоринов на КМ у здоровых добровольцев выявило резкое снижение разнообразия КМ и уменьшение количества всех бактерий на 1/3–1/2 от исходного уровня (Relman D., 2012). Разные антибиотики оказывают действие на разные семейства КМ. Например, цефалоспорины подавляют рост всех лактобацилл и увеличивают рост клостридий (*C. difficile*); стрептомицин значительно (до 95%) снижает численность всех бактерий; канамицин значительно снижает численность анаэробов, особенно лактобактерий.

Следует учесть, в современных условиях население подвергается постоянному субтерапевтическому действию антибиотиков, используемых в сельском хозяйстве. Это воздействие не снижает общее количество бактерий, но может вызвать неблагоприятный сдвиг в составе КМ и увеличивает число антибиотикорезистентных штаммов. Нарушение состава и числа штаммов КМ приводит к нарушению выработки защитных факторов. Так, лечение ванкомицином в сочетании с метронидазолом снижает продукцию антимикробных пептидов и секреторного IgA в кишечнике (Willing B. et al., 2011).

Есть немало доказательств нарушения иммунного ответа при антибиотикотерапии, причем эти нарушения связаны со снижением не только антимикробной активности, но и активности иммуннокомпетентных клеток. Экспериментальные исследования показывают снижение экспрессии Толл-подобных рецепторов (TLR) в макрофагах после проведения антибиотикотерапии. Снижение экспрессии TLR приводит к нарушению иммунного ответа на полисахариды стенок патогенных бактерий (Umena T., 2010).

Использование антибиотиков широкого спектра действия (амоксциллин) в течение 7 дней у новорожденных сопровождается грубыми изменениями КМ: резким снижением количества би-

фидобактерий и лактобацилл вплоть до полной их эрадикации, замещением здоровой микрофлоры антибиотикорезистентными штаммами, повышением активности тучных клеток и увеличением риска развития атопии.

### Кишечная микробиота и кесарево сечение

Согласно данным современных исследований, кесарево сечение (КС) является сильнейшим фактором нарушения КМ у младенца и увеличивает риск развития ряда заболеваний, в основе которых лежит нарушение иммунных функций и развитие процессов хронического воспаления.

КМ новорожденных детей при вагинальных родах наиболее близка в вагинальной микробиоте матери, с доминированием *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Atopobium*, в то время как при искусственных родах КМ близка к кожной микробиоте с доминированием стафилококков. Выявлено, что при КС в КМ младенцев обнаружено 64–82% метициллинрезистентных штаммов *Staphylococcus aureus* (Domingues-Bello M. et al., 2010).

Нарушения состава КМ у детей, рожденных путем КС, не нормализуются до достижения ребенком 1 года жизни. Более того, у детей в возрасте 1 года, рожденных путем КС, сохраняется снижение соотношения анаэробных бактерий и факультативных бактерий, что может рассматриваться как слабое развитие анаэробной микрофлоры, неспособной подавить рост факультативных бактерий. У таких детей повышено содержание энтеробактерий, таких как *Klebsiella*, *Enterobacter* при сниженной колонизации *E. coli*. В кишечнике младенцев, рожденных путем КС, чаще присутствуют клостридии, включая *C. perfringens* и *C. difficile*. Как показала одна из последних работ канадских ученых, изменения в составе КМ у детей, перенесших КС, сохраняются до 4 лет (Azad M. et al., 2013).

Операция КС нарушает не только характер, но и разнообразие КМ у детей. Исследование КМ у новорожденных в возрасте 3 дней выявило отсутствие бифидобактерий в образцах стула, в то время как у детей, родившихся естественным путем, доминировали *B. longum* и *B. catenulatum*, при этом количество штаммов бактерий было меньше у детей, родившихся с использованием КС.

Уменьшение разнообразия КМ является сильным фактором риска развития атопии у детей. По данным E. Fogno и соавт. (2008), уменьшение разнообразия КМ у младенцев в возрасте 1 мес являлось фактором развития у них атопии на протяжении 1-го года жизни. Авторы показали, что у детей с низким разнообразием КМ достоверно чаще развивались признаки атопии, чем у детей с более высоким индексом разнообразия КМ.

Связь КС с развитием атопии у детей активно изучалась на протяжении последних 20 лет. Интересно отметить, что вне зависимости от характера родов у детей с атопией КМ выражено отличалась от КМ у здоровых детей; так, у детей с атопией в возрасте 18 мес было увеличено количество кластеров клостридий (кластеры IV и IVa), в то время как у здоровых детей того же возраста количество *Bacteroidetes* было в 3 раза больше, чем у детей с атопией (Nylund L. и соавт., 2013). Таким образом, нарушения КМ и прежде всего – вызванные КС, являются фактором риска развития ряда заболеваний у детей. Это касается не только аллергических состояний, таких как атопический дерматит, пищевая аллергия, но и аутоиммунных процессов. Судя по некоторым данным, КС и сопутствующие ему нарушения КМ являются также фактором риска развития таких заболеваний, как сахарный диабет типа 1 (СД1) и целиакия. Несмотря на генетическую предрасположенность, в генезе этих заболеваний большую роль играет состояние КМ. Это подтверждается обнаружением различий КМ у детей с СД1 и здоровых детей аналогичного возраста. Различия КМ у здоровых детей и детей с СД1 обнаруживаются уже в раннем возрасте. У здоровых детей старше 1 года КМ становилась более стабильной и более здоровой, в то время как у детей, у которых впоследствии развился СД1, разнообразие микрофлоры было снижено. Снижение разнообразия КМ влечет за собой угнетение процессов пищеварения, более низкий уровень поступления энергии. Важная особенность КМ у детей с аутоиммунным процессом – более высокое соотношение уровней *Firmicutes* и *Bacteroidetes*, чем у детей контрольной группы, причем эти изменения наблюдались уже в первые 6 мес жизни (Giongo A. и соавт., 2011).

Следует отметить, что, согласно данным, полученным из региональных комитетов здравоохранения, частота КС в РФ варьирует от 17 до 48%, составляя в среднем по России 24%

### Характер вскармливания и кишечная микробиота

Грудное вскармливание новорожденного во многом определяет характер микробной колонизации кишечника. У здоровых детей, находящихся на грудном вскармливании, доминирующей флорой кишечника являются бифидобактерии, и создается впечатление, что рост других бактерий подавляется (Weng M. и Walker W., 2012). У детей, получающих детские смеси, во многих случаях также преобладают бифидобактерии, однако их количество у детей, получающих грудное молоко, практически в 10 раз выше. Бифидобактерии составляют 80–95% микрофлоры ребенка, получаю-

щего материнское молоко до введения прикорма, и 20–25% микрофлоры взрослого человека. У детей в возрасте 1 мес уровень бифидобактерий прямо коррелирует с продукцией секреторного IgA; кроме того, у них снижен уровень провоспалительного интерлейкина-6.

Первый глубокий сравнительный анализ влияния грудного молока и искусственной смеси на рост бифидобактерий провели С. Bullen и А. Willis еще в 1971 г. По их данным, грудное молоко, обладающее низкой буферной емкостью, благодаря низкому уровню фосфора и белка, позволяет быстро снизить pH кишечного содержимого и таким образом способствует росту бифидобактерий, подавляя рост микрофлоры, не способной размножаться в кислой среде. В молочной смеси обычно больше, чем в грудном молоке, белка и фосфора, она обладает высокой буферной емкостью, что снижает продукцию кислоты и оставляет стабильным pH кишечного содержимого. Кроме того, повышенный уровень белка благоприятен для роста бактерий-протеолитиков.

За последние 10 лет опубликовано несколько работ, в которых показано влияние различных фракций белка на рост бифидобактерий. Особое внимание исследователей привлекает  $\alpha$ -лактальбумин ( $\alpha$ ЛА), на долю которого приходится 25–35% общего белка грудного молока. В коровьем молоке, на основе которого изготавливаются детские молочные смеси, доля  $\alpha$ ЛА – только 2–5% общего содержания белка;  $\alpha$ ЛА обладает рядом физиологических свойств очень важных для детей раннего грудного возраста. Прежде всего в нем содержится много особенно важных для грудного ребенка аминокислот (триптофан – 4–5%, лизин – 11%, цистеин – 6%), причем гомологическое совпадение аминокислотного состава грудного и коровьего  $\alpha$ ЛА – 74%.  $\alpha$ ЛА обладает способностью связывать кальций и цинк и ускоряет их всасывание. При переваривании  $\alpha$ ЛА образуются пептиды, обладающие антибактериальными и иммуностимулирующими свойствами, которые влияют на процессы апоптоза и ускоряют пролиферацию клеток слизистой оболочки кишечника (Lonnerdal B. и Lien L., 2003).

Согласно результатам ряда исследований,  $\alpha$ ЛА способствует росту бифидобактерий в кишечнике детей. По мнению исследователей, обогащение современных смесей  $\alpha$ ЛА может улучшить защитные свойства КМ. Исследование смеси со сниженным уровнем фосфора и обогащенной  $\alpha$ ЛА выявило повышение уровня бифидобактерий в стуле детей первых месяцев жизни (Булатова Е.М. и др., 2007).

Довольно хорошо изучены также свойства олигосахаридов грудного молока, способствующих росту бифидобактерий.

В последние годы активно изучаются бактерии грудного молока. Известно, что грудное молоко не является стерильным, а содержит бактерии, присутствующие в кишечнике матери. В последних работах, посвященных этому вопросу, отмечается, что в женском грудном молоке содержится приблизительно 700 разных видов бактерий; появилось даже понятие «микробиом грудного молока» (Cabrera-Rubio R. и соавт., 2012).

Таким образом, повышение риска развития «болезней цивилизации» во многом связано с современным образом жизни, приводящим к нарушению нормальной здоровой колонизации кишечника и формированию вследствие этого избыточного или неправильного иммунного ответа. Нарушения иммунного статуса младенца сохраняются на долгие годы и являются важной причиной нарушения здоровья взрослого человека. Пробиотики, обладая способностью улучшать состав КМ, могут способствовать формированию противовоспалительной защиты и толерогенной направленности иммунного ответа. Использование пробиотиков у младенцев при нарушенной КМ может снизить риск развития иммуноопосредованных заболеваний и хронических воспалительных процессов.

#### Рекомендуемая литература

Булатова Е.М., Нетребенко О.К., Губруская Т.В. и др. Питание и формирование здоровой кишечной микрофлоры у детей первых месяцев жизни // Педиатрия. – 2007; 3: 84–89.

Azad M, Konya T, Maughan H, et al. Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months. Can. Med. Ass. Journal. 2013; 2: 1503–1513.

Cabrera-Rubio R, Collado M, Laitinen K, et al. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. AJCN. 2012; 96: 544–551.

Collado MC, Isolauri E, Laitinen K. Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. Am. J. Clin. Nutr. 2008; 88: 894–899.

Dimmitt R, Staley E, Chuang G, et al. Role of postnatal acquisition of the intestinal microbiota in the early development of immune function. JPGN. 2010; 51 (3): 262–273.

#### PROBIOTICS IN BABY NUTRITION: IMMUNITY DEVELOPMENT AND ALLERGY PREVENTION

Professor O.K. Netrebenco

N.I. Pirogov Russian National Research Medical University

**The paper considers the data of present-day studies examining the relationship between the intestinal microbiota and the risk of immune-mediated diseases in children.**

**Key words:** children, intestinal microbiota, probiotics, diseases of civilization.