

Особенности уровня защиты кишечного барьера у детей раннего возраста

КОВАЛЕВА О. В.^{1,2}, ЛИТЯЕВА Л. А.¹, ЖИЛЕНКОВА О. Г.³

¹ФБОУ ВО Оренбургский государственный медицинский университет Минздрава России

²ООО Медицинский центр «Диметра»

³ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия

Цель исследования — выявление особенностей состояния микробиоценоза кишечника и уровня защиты кишечного барьера у детей раннего возраста с функциональными расстройствами органов пищеварения. **Методы:** представлено исследование микробиоты кишечника методом газовой хромато-масс-спектрометрии микробных маркеров у 25 детей раннего возраста с функциональными нарушениями кишечника. **Результаты.** Выявлено, что это были дети из группы риска по развитию инфекционно-воспалительных заболеваний. У всех регистрировалось нарушение формирования кишечного микробиоценоза в виде дефицита представителей нормальной микробиоты с избыточным ростом ассоциаций условно-патогенных бактерий по 6—20 видов. У 18 из 25 детей был обнаружен высокий уровень эндотоксина. **Заключение.** Установлена тесная взаимосвязь степени дисбаланса кишечной микробиоты с таковой концентрации эндотоксина, определяющего базовый уровень воспаления и уровень защиты кишечного барьера/повышения его проницаемости, а также степени воспалительных изменений в копрограмме.

Ключевые слова: микробиота, кишечник, эндотоксин, слизисто-эпителиальный барьер

Features of the level of protection of the intestinal barrier in young children

Kovaleva O. V.^{1,2}, Lityaeva L. A.¹, Zhilenkova O. G.³

¹Orenburg State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Orenburg, Russia

²Medical Center «Dimetra»

³G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Moscow

The aim of the study is to identify the characteristics of the intestinal microbiocenosis and the level of protection of the intestinal barrier in young children with functional disorders of the digestive organs. **Methods.** The article presents a study of the intestinal microbiota using gas chromatography-mass spectrometry of microbial markers in 25 young children with functional disorders of the digestive system. **Results.** It was revealed that these were children at risk for the development of infectious and inflammatory diseases. All of them had a violation of the formation of intestinal microbiocenosis in the form of a deficiency of normal microbiota representatives with an excessive growth of opportunistic bacteria associations of 6—20 species. High levels of endotoxin were detected in 18 of the 25 children.

Conclusion. A close relationship was established between the degree of intestinal microbiota imbalance and the concentration of endotoxin, which determines the basic level of inflammation and the level of protection of the intestinal barrier/increased permeability, as well as the degree of inflammatory changes in the coprogram.

Keywords: microbiota, intestine, endotoxin, mucosal-epithelial barrier

Для цитирования: Ковалева О.В., Литяева Л.А., Жиленкова О.Г. Особенности уровня защиты кишечного барьера у детей раннего возраста. Детские инфекции. 2025; 24(4):26-30. doi.org/10.22627/2072-8107-2025-24-4-26-30

For citation: Kovaleva O.V., Lityaeva L.A., Zhilenkova O.G. Features of the level of protection of the intestinal barrier in young children. *Detskie Infektsii=Children Infections*. 2025; 24(4):26-30. doi.org/10.22627/2072-8107-2025-24-4-26-30

Информация об авторах:

Ковалёва Оксана Васильевна (Kovaleva O.V.), к.м.н., доцент кафедры эпидемиологии и инфекционных болезней ОрГМУ Минздрава России, Оренбург; oksana_kovaleva_73@list.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3701-7175>

Литяева Людмила Алексеевна (Lityaeva L.A.), д.м.н., профессор кафедры эпидемиологии и инфекционных болезней ОрГМУ Минздрава России, Оренбург; lityaeva@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6695-219X>

Жиленкова Ольга Геннадьевна (Zhilenkova O.G.), к.б.н., ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории биологии бифидобактерий ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва; o.g.zhilenkova@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3206-6648>

Микробиота желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) является одним из основных факторов, определяющих состояние здоровья человека. Практически все функции, метаболические и сигнальные реакции, протекающие в клетках и органах человеческого организма, согласованно работают с составом и функциями его симбиотической микробиоты [1,2]. Важнейшей зоной взаимодействия является слой эпителиальных клеток, поверхность которых покрыта слизистой плёнкой, секретирующей слизь. Это барьер, блокирующий попадание в ток крови потенциально-патогенных бактерий и других микроорганизмов, обеспечивающий должный уровень защиты от воздействия патогенных факторов [3].

Нарушения кишечной микробиоты на этапе её формирования, сопровождаемые пролиферацией потенциально-патогенных бактерий, инициируют развитие воспалительного процесса, триггером которого являются липополисахариды (ЛПС) грамотрицательных бактерий. ЛПС — основной компонент клеточной стенки грамотрицательных бактерий, обеспечивающий целостность бактерий и защищающий их от разрушения. В обычных условиях попадание ЛПС в кровь блокируется плотными контактами в межклеточном пространстве оболочки кишечника [4]. При их нарушении обо-

лочка кишечника становится легко проницаемой, ЛПС попадают в кровь и могут вызывать воспалительные процессы. По этой причине плотные контакты в межклеточном пространстве определяют базовый уровень воспалительного процесса, а уровень ЛПС выступает не только как показатель воспаления, но и как таковой повышенной проницаемости кишечного барьера [5,6].

Следует отметить, что подавляющее большинство микробов, находящихся в кишечнике, составляют грамотрицательные бактерии (60—70%) с ЛПС в клеточной стенке, классифицируемые как эндотоксины. Поэтому высокие уровни ЛПС часто отражают транслокацию грамотрицательных бактерий из кишечника в кровоток [7].

В современных условиях роста числа воспалительных заболеваний пищеварительной системы у детей изучение уровня защиты кишечного барьера на этапе формирования кишечной микробиоты и факторов, провоцирующих/инициирующих воспалительный процесс у детей раннего возраста является актуальным.

Цель исследования — выявление особенностей состояния микробиоценоза кишечника и уровня защиты кишечного

барьера у детей раннего возраста с функциональными расстройствами органов пищеварения.

Материалы и методы исследования

Проведено обследование 25 детей с функциональными нарушениями ЖКТ, которое включало общий анализ крови, копрограмму, исследование кала на яйца глистов и простейших, УЗИ органов брюшной полости.

Видовой состав кишечной микробиоты тонкой кишки определяли по профилю микробных маркеров с помощью газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) (ФС2010/038 от 24.02.2010), с последующей реконструкцией состава и структуры микробного сообщества с помощью программ автоматического анализа и обработки данных [8]. В основе метода — высокоточное определение специфических маркерных молекул, входящих в состав клеточных липидов микроорганизмов, а также являющихся их специфическими метаболитами. При этом опирались на соотношение бактерий групп Firmicute/Bacteroides, количественное содержание основных групп нормобиоты, грибов, а также на видовой состав со спектром условно-патогенных бактерий и вирусов. Исследования проведены в лаборатории бифидобактерий ФБУН МНИИЭМ им Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора (г. Москва). Для количественного видового анализа микробных сообществ использовали 50 мг лиофилизированного биоматериала. Содержание индивидуальной жирной кислоты рассчитывали как процент от общего количества жирных кислот [9]. Высушенный биоматериал (венозная кровь) подвергали кислотному метанолизу при температуре 80°C в течение 50 минут, при котором молекулярные маркеры высвобождаются из сложных липидов микроорганизмов и других клеток образца в виде метиловых эфиров и диметилацеталей. Продукты экстрагировали гексаном и подвергали дериватизации для улучшения хроматографической подвижности гидроксикислот и стеролов. На этапе пробоподготовки в пробу вводили внутренний стандарт — дейтерированная тридекановая кислота, по которому, в дальнейшем производили количественный расчет. С помощью автосемплера вводили 2 мкл пробы в газовый хроматограф «МАЭСТРО ГХ — 7820 А» с селективным масс-детектором ионов 5975 series MSD Agilent Technologies Inc (США). Селективно регистрировали специфические ионы, характерные для маркерных соединений, в избранных интервалах времени (режим регистрации выбранных ионов, Single Ion Monitoring, SIM). Суммарно в режиме SIM регистрируются 37 спектральных линий (масс ионов), которые перекрывают 150 таксономически значимых маркеров микроорганизмов [9].

Критерием недостаточного уровня защиты кишечного барьера был показатель эндотоксина (ЛПС), превышающий норму (0,5 наномоль/мл).

Статистический анализ корреляции выполнен с использованием Microsoft Excel 2007. Степень корреляционной связи оценивали по величине коэффициента корреляции Пирсона, учитывая силу связей: сильная — при значениях модуля коэффициента корреляции $\geq 0,70$, средняя — при 0,50–0,69, умеренная — при 0,30–0,49, слабая — при 0,20–0,29.

Результаты и их обсуждение

Все дети были в возрасте от 6 месяцев до 3 лет, 15 мальчиков, 10 девочек. Жалобами при обращении были периодические боли в животе (25/25), избирательный аппетит с преимущественным употреблением углеводов (18/25),

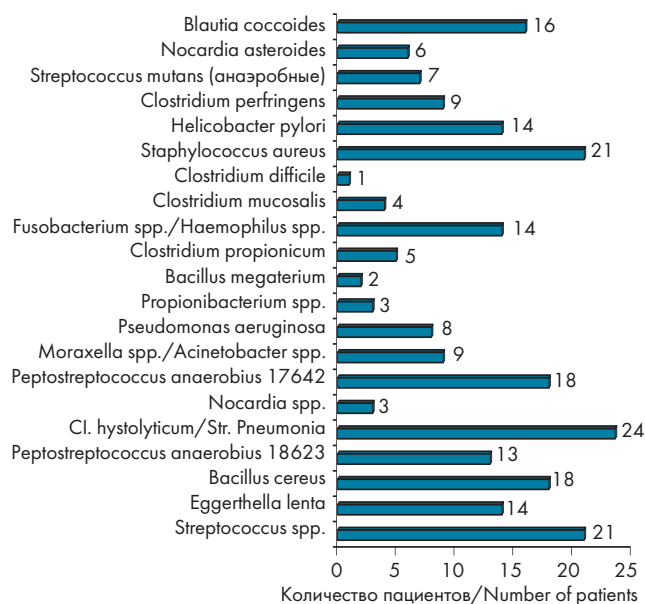


Рисунок 1. Частота встречаемости условно-патогенных бактерий
Figure 1. Frequency of occurrence of opportunistic bacteria

запоры (8/25), неустойчивый характер стула с чередованием запоров и диареи (15/25), вздутия и урчания в животе (7/25), периодически возникающий жидкий стул (7/25).

Таблица 1. Сопоставление показателей эндотоксина и суммарной концентрации условно-патогенных бактерий (УПБ)

Table 1. Comparison of endotoxin indicators and total concentration of opportunistic bacteria

Показатель эндотоксина/ Endotoxin level	Суммарная концентрация УПБ/ Total concentration of opportunistic bacteria
0,28	7118
0,19	8798
0,31	8955
0,31	9438
0,45	7638
0,17	8628
0,38	16526
0,5	19538
0,56	14214
0,62	18539
0,56	13815
0,77	13608
0,81	17801
0,72	15086
0,6	10334
0,58	12122
0,58	32464
1,21	10789
1,28	22626
1,39	13714
1,23	35280
1,61	24863
1,67	14758
1,95	17456
2,32	31499



Рисунок 2. Сравнение уровня эндотоксина с уровнем суммарной концентрации условно-патогенных бактерий, превышающих норму
Figure 2. Comparison of the endotoxin level with the level of the total concentration of opportunistic bacteria exceeding the norm

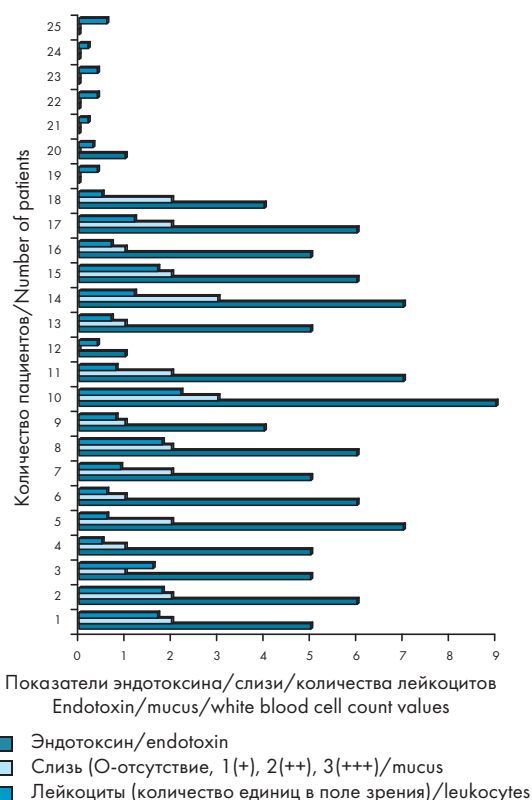


Рисунок 3. Степень выраженности признаков воспаления в копрограмме в зависимости от уровня эндотоксина
Picture 3. The degree of expression of signs of inflammation in the coprogram depending on the level of endotoxin

У 2 детей были проявления atopического дерматита. Из анамнеза жизни известно, что все пациенты родились от матерей из группы риска по развитию инфекционно-воспалительных заболеваний.

Все дети родились в срок 39–40 недель, роды были физиологические. Беременность протекала на фоне анемии легкой степени тяжести (19/25), угрозы прерывания (10/25), гестоза (20/25). Физическое развитие у всех новорожден-

ных соответствовало норме. На грудном вскармливании большинство детей (19/25) находились до 1 года, 6 младенцев были переведены на искусственное вскармливание в возрасте 4–8 месяцев по причине гипогалактии у матерей. Кишечные дисфункции отмечались с рождения у всех детей в виде нарушения моторно-эвакуаторной (запоры (10/25), диарея (9/25) и переваривающей (стеато-и амилорея (21/25) функций. Прибавка веса у всех детей соответствовала норме.

При объективном осмотре состояние было удовлетворительным (25/25). У 8 детей язык был обложен белым налетом, при пальпации живота отмечалась болезненность в околопупочной (7/25) и левой подвздошной (8/25) областях, вздутия и урчания в животе регистрировались у 18/25.

Общий анализ крови у всех наблюдаемых был без патологии.

В копрограмме отмечались стеато- и амилорея (21/25), признаки воспаления (слизь, повышение количества лейкоцитов) (18/25).

Анализ кала на яйца глистов и простейших у всех обследованных был отрицательным.

При УЗИ органов брюшной полости выявлялись реактивные изменения поджелудочной железы (3/25), признаки сладжированной желчи (5/25), у остальных детей — без патологии.

Методом газовой хромато-масс-спектрометрии были получены микробные маркеры родов условно-патогенных бактерий и представителей нормальной микрофлоры. Микробиологическое ядро, представленное суммой микробных маркеров *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Eubacterium* spp., *Propionibacterium freudenreichii*, у всех детей было снижено с минимальным показателем 1372, максимальным — 15 171 (норма 23 072), что составляло 5% и 52,7% соответственно от общего числа микробных маркеров микроорганизмов (норма 68%).

У всех обследованных детей отмечался избыточный рост ряда представителей условно-патогенных бактерий (превышение их микробных маркеров в 2 и более раза относительно нормы) (рис. 1).

У большей половины детей регистрировались маркеры *Cl. histolyticum*/*Str. pneumonia* (24/25), *Streptococcus* spp. (21/25), *Staphylococcus aureus* (21/25), *Bacillus cereus* (18/25), *Peptostreptococcus anaerobicus* 17642 (18), *Blautia coccoides* (16/25), *Helicobacter pylori* (14/25), *Eggertella lenta* (14/25), *Fusobacterium* spp./*Haemophilus* spp. (14/25). При этом у всех детей имела место ассоциация условно-патогенных бактерий по 6–20 видов. Удельный вес представителей УПБ составлял 48–80% при норме 32% от общего числа микробных маркеров микроорганизмов в кишечнике. Все это свидетельствовало о нарушении формирования микробиоценоза кишечника с избыточным бактериальным ростом условно-патогенных бактерий в тонкой кишке.

У большинства детей (18/25) при исследовании маркеров эндотоксина выявлено превышение его нормы (более 0,5 нано-моль/мл). При этом повышение от 0,5 до 1 нано-моль/мл было у 10 из 18 детей, от 1 до 2 нано-моль/мл — у 7 из 18, выше 2 нано-моль/мл — у 1 ребенка. В группе детей с нормальным показателем уровня эндотоксина (7 человек) средний показатель нормального его значения составил 0,29 нано-моль/мл.

Сравнение уровня эндотоксина с числом представителей условно-патогенных бактерий, превышающих норму, у де-

Таблица 2. Взаимосвязь степени воспаления в кишечнике с уровнем эндотоксина
Table 2. Relationship between the degree of intestinal inflammation and endotoxin levels

Уровень эндотоксина/ Endotoxin level	Показатели эндотоксина/ Endotoxin indicators	Воспаление в кишечнике/ Inflammation in the intestines
В пределах нормы (n = 7)	0,1—0,5	—
Повышен незначительно (n = 9)	0,6—0,9	Степень низкой активности
Высокий (n = 9)	Более 1	Степень высокой активности

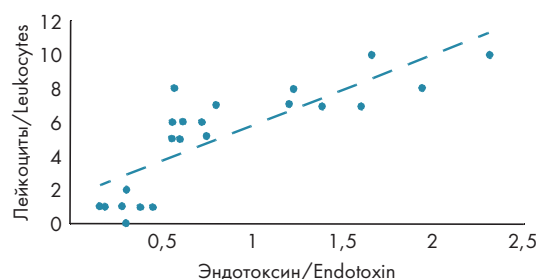


Рисунок 4. Взаимосвязь уровня ЛПС и числа лейкоцитов в копрограмме

Picture 4. The relationship between the level of lipopolysaccharides and the number of leukocytes in the coprogram

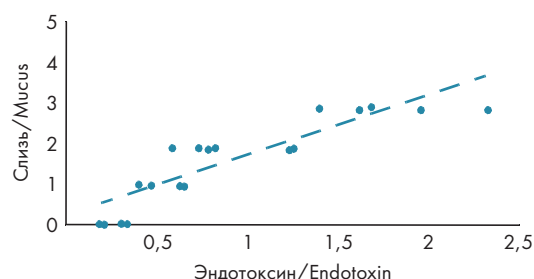


Рисунок 5. Взаимосвязь уровня ЛПС и количества слизи в копрограмме

Picture 5. The relationship between the level of lipopolysaccharides and the amount of mucus in the coprogram

тей с нормальным значением эндотоксина и с таковым, превышающим норму, существенной разницы не выявило. Коэффициент корреляции 0,69315. Но максимальное количество УПБ — 20 разновидностей — выявлено у ребенка с уровнем эндотоксина более 2 наномоль/мл.

Однако при сопоставлении уровня эндотоксина с суммарной концентрацией УПБ, превышающих норму, выявлены различия (табл. 1). В группе детей с нормальным уровнем эндотоксина средняя концентрация УПБ была равна 10 700 (норма 10 554), у детей с уровнем эндотоксина от 0,5 до 1 наномоль/мл — средняя концентрация УПБ была 15 331 (в 1,5 раза выше нормы), а при повышении эндотоксина выше 1 наномоль/мл средняя концентрация УПБ составляла 21 193 (в 2 раза выше нормы). Коэффициент корреляции 0,54688.

Вместе с тем, сопоставление суммарной концентрации представителей нормальной микробиоты кишечника с уровнем эндотоксина существенных отличий у детей не выявило (коэффициент корреляции 0,2603).

По результатам копрограммы, у части детей (18 из 25) регистрировались признаки воспаления (слизь, повышение количества лейкоцитов). У пациентов с разными значениями эндотоксина выраженность признаков воспаления в кишечнике (слизь +/++/+++, увеличение числа лейкоцитов в поле зрения) была разной (рис. 3). У детей с нормальными значениями эндотоксина признаки воспаления в копрограмме отсутствовали.

Список литературы:

1. Горелов А.В., Е.В. Каннер, М.Л. Максимов, А.С. Ермолаева, А.А. Вознесенская, К.Н. Дадасева. Кишечная микробиота: современные доказательные данные эффективности применения *Lactobacillus rhamnosus* GG и *Bifidobacterium longum* в практике педиатра. Школа педиатра. Медицинский совет. 2018; 11:175—180. Doi. 10.21518/2079-701X-2018-11-175-180
2. Gebrayel, P., Nicco, C., Al Khodor, S. et al. Microbiota medicine: towards clinical revolution. *J Transl Med.* 2022; 20:111. <https://doi.org/10.1186/s12967-022-03296-9>

Выявлена тесная взаимосвязь между уровнем ЛПС и степенью активности воспаления в кишечнике (слизь +/++/+++ и количеством лейкоцитов). По количеству повышения слизи с уровнем эндотоксина коэффициент корреляции 0,843563, по количеству повышения лейкоцитов с уровнем эндотоксина — коэффициент корреляции 0,809883 (рис. 4, 5).

Заключение

Таким образом, проведенное обследование показало, что у большей половины детей раннего возраста с функциональными нарушениями кишечника на фоне дисбаланса кишечной микробиоты с увеличением пропорций условно-патогенных бактерий и высокой бактериальной нагрузки выявлено увеличение суммарной концентрации эндотоксинов, инициирующих развитие воспаления и негативно влияющих на уровень защиты кишечного барьера с повышением его проницаемости.

Установлена тесная взаимосвязь степени дисбаланса кишечной микробиоты со степенью концентрации эндотоксина, определяющего базовый уровень воспаления и уровень защиты кишечного барьера/повышения его проницаемости, а также степени воспалительных изменений в копрограмме.

Мониторинг уровня эндотоксина показал, что у детей группы риска повышение его количества начинает регистрироваться на ранних сроках формирования кишечной микробиоты и служит сигналом для её модуляции и укрепления слизисто-эпителиального барьера кишечника.

References:

1. Gorelov A.V., E.V. Kanner, M.L. Maksimov, A.S. Ermolaeva, A.A. Voznesenskaya, K.N. Dadasheva. Intestinal microbiota: modern evidence on the effectiveness of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Bifidobacterium longum* in pediatric practice. *School of pediatrician. Medical council.* 2018; 11:175—180. (In Russ.) Doi. 10.21518/2079-701X-2018-11-175-180
2. Gebrayel, P., Nicco, C., Al Khodor, S. et al. Microbiota medicine: towards clinical revolution. *J Transl Med.* 2022; 20:111. <https://doi.org/10.1186/s12967-022-03296-9>

3. Mu Q, Kirby J, Reilly CM, Luo Xm. Intestinal Permeability as a Danger Signal for Autoimmune Diseases. *Front. Immunol.* 2017; 8:598. Doi:10.3389/fimmu.2017.00598.
4. Кайтамазова Н.К. Микробиота кишечника и её влияние на организм. *Современные вопросы биомедицины.* 2022; 6(3). DOI:10.51871/2588-0500_2022_06_03_8
5. Скалинская М.И., Деев Р.В., Пресняков Е.В., Чекмарева И.А., Сказываева Е.В., Бакулин И.Г. Гистон эпителиального кишечного барьера при воспалительных заболеваниях кишечника: морфофункциональная характеристика и клиническое значение. *Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение.* 2023; 7(5):292–299. DOI: 10.32364/2587-6821-2023-7-5-7
6. Симаненков В.И., Маев И. В., Ткачева О. Н., Алексеенко С. А., Андреев Д. Н., Бордин Д. С., и соавт. Синдром повышенной эпителиальной проницаемости в клинической практике. Мультидисциплинарный национальный консенсус. *Журнал Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2021; 20(1):202.
7. Vincenzo F.D., A.D. Gaudio, V. Petito, L.R. Lopetuso, F. Scaldaferri. Gut microbiota, intestinal permeability, and systemic inflammation: a narrative review. *Internal and Emergency Medicine.* 2024; 19:275–293.
8. Баранов В.М., Осипов Г.А., Мухамедиева Л.Н., Белобородова Н.В., Пахомова А.А., Родионова Т.А. Оценка микробиологического статуса человека методом хромато-масс-спектрометрии. *Новая медицинская технология. МЗ РФ № НЮ-40006, 17.08.2009.*
9. Попов Д.А., Овсиенко С.Т., Осипов Г.А., Вострикова Т.Ю. Ускоренный способ идентификации возбудителей бактериемий с применением метода газовой хромато-масс-спектрометрии. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2013; 5:54–8.
10. Бельмер С.В., Волюнец Г.В., Горелов А.В., Гурова М.М., и др. Функциональные расстройства органов пищеварения у детей: Рекомендации Общества детских гастроэнтерологов, гепатологов и нутрициологов. Редакция от 02.04.2020:64. DOI: 10.21508/KR-2021
3. Mu Q, Kirby J, Reilly CM, Luo Xm. Intestinal Permeability as a Danger Signal for Autoimmune Diseases. *Front. Immunol.* 2017; 8:598. Doi:10.3389/fimmu.2017.00598.
4. Kajtamazova N.K. Intestinal microbiota and its impact on the body. *Modern issues of Biomedicine.* 2022; 6(3). (In Russ.) DOI:10.51871/2588-0500_2022_06_03_8
5. Skalinskaya M.I., Deev R.V., Presnyakov E.V., Chekmareva I.A., Skazyvaeva E.V., Bakulin I.G. Histion of the intestinal epithelial barrier in inflammatory bowel diseases: morphofunctional characteristics and clinical significance. *Russian Medical Journal. Medical Review.* 2023; 7(5):292–299. (In Russ.) DOI: 10.32364/2587-6821-2023-7-5-7
6. Simanenkov V.I., Maev I. V., Tkacheva O. N., Alekseenko S. A., Andreev D. N., Bordin D. S. Increased epithelial leakage syndrome in clinical practice. *Multidisciplinary national consensus. Journal of Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2021; 20(1):202. (In Russ.)
7. Vincenzo F.D., A.D. Gaudio, V. Petito, L.R. Lopetuso, F. Scaldaferri. Gut microbiota, intestinal permeability, and systemic inflammation: a narrative review. *Internal and Emergency Medicine.* 2024; 19:275–293.
8. Baranov V.M., Osipov G.A., Muhamedieva L.N., Beloborodova N.V., Pakhomova A.A., Rodionova T.A. Evaluation of the microecological status of a person by chromatography-mass spectrometry. *New medical technology. Ministry of Health of the Russian Federation No. NYU-40006, 17.08.2009.* (In Russ.)
9. Popov D.A., Ovsienko S.T., Osipov G.A., Vostrikova T.YU. An accelerated method for identifying bacteremia pathogens using the gas chromatography-mass spectrometry method. *Clinical Laboratory Diagnostics.* 2013; 5:54–8. (In Russ.)
10. Bel'mer S.V., Volynec G.V., Gorelov A.V., Gurova M.M., et al. Functional disorders of the digestive system in children: Recommendations of the Society of Pediatric Gastroenterologists, Hepatologists and Nutritionists. Revised on 02.04.2020:64. (In Russ.) DOI: 10.21508/KR-2021

Статья поступила 24.03.2025

Конфликт интересов: Авторы подтвердили отсутствие конфликта интересов, финансовой поддержки, о которых необходимо сообщить.

Conflict of interest: The authors confirmed the absence conflict of interest, financial support, which should be reported.