

УДК 615.383-053.3:577.161.2.011

М.Є. Маменко, М.Р. Романько

Вплив застосування комбінації *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 із вітаміном D на рівень 25(OH)D у сироватці крові дітей раннього віку

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, м. Київ, Україна

Modern Pediatrics. Ukraine. 5(109): 59-69. doi 10.15574/SP.2020.109.59

For citation: Mamenko ME, Romanko MR. (2020). Effects of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 and vitamin D combination on the level of 25(OH)D in blood serum of young children. Modern Pediatrics. Ukraine. 5(109): 59-69. doi 10.15574/SP.2020.109.59

Пошук оптимальних рівнів вітаміну D і підходів до сапліментації з метою забезпечення широкого спектра профілактичних ефектів для організму людини залишаються в центрі уваги фахівців усього світу. Один із перспективних напрямів — поліпшення абсорбції вітаміну D у шлунково-кишковому тракті (ШКТ) шляхом застосування пробіотиків.

Мета — вивчити вплив застосування комбінації *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 із вітаміном D на рівень 25(OH)D у сироватці крові дітей раннього віку.

Матеріали та методи. Загалом обстежено 56 дітей віком 1–36 місяців з ознаками порушення функціонування ШКТ. Серед них 45 дітей рандомізовано для участі в порівняльному дослідженні ефективності застосування комбінації 400 МО холекальциферолу і 10⁸ КУО життєздатних бактерій *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 (основна група — 24 дитини) та олійного розчину вітаміну D у дозі 500 МО (контрольна група — 21 дитина) протягом 12 тижнів. В усіх дітей на початку і наприкінці дослідження визначено показники кальцієво-фосфорного обміну (25(OH)D, кальцій загальний та іонізований, фосфор неорганічний, лужна фосфатаза) та рівні загального IgE в сироватці крові, оцінено динаміку функціонального стану ШКТ.

Результати. На початку дослідження медіана концентрації 25(OH)D у сироватці крові дітей становила 30,3 нг/мл (23,2–41,2), серед них лише у 53,3±7,4% (24/45) цей показник перевищував 30 нг/мл. Застосування комбінації вітаміну D₃ з *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 дало змогу досягти статистичної різниці медіани концентрації 25(OH)D через 12 тижнів порівняно з аналогічним показником на початку дослідження: 37,4 нг/мл (30,2–52,3) проти 28,3 нг/мл (20,8–42,9), $p=0,000$. Рівень 25(OH)D в цих дітей перевищував 20 нг/мл, з них 75,0±8,8% (18/24) мали рівень концентрації 25(OH)D понад 30 нг/мл. Використання сапліментів вітаміну D 400 МО у поєднанні з *Lactobacillus reuteri* протягом 12 тижнів дало змогу знизити медіану концентрації загального IgE практично вдвічі — з 64,1 МО/мл (9,2–120,0) до 31,9 МО/мл (6,4–143,6), але зі значним індивідуальним розкидом даних. Комбінація вітаміну D із *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 позитивно впливала на функціональну активність ШКТ у дітей раннього віку, достовірно знижуючи частоту скарг батьків на затримку випорожнень, занепокоєння під час дефекацій у їхніх дітей.

Висновки. Використання сапліментів вітаміну D₃ у дозі 400 МО у поєднанні з пробіотичним штамом *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 позитивно впливає на функціональний стан ШКТ дітей раннього віку та підвищує вміст 25(OH)D у сироватці крові. Ефекти застосування комбінації вітаміну D із *Lactobacillus reuteri* в дітей з обтяженим алергологічним анамнезом потребують подальшого вивчення.

Дослідження виконано відповідно до принципів Гельсінської Декларації. Протокол дослідження ухвалено Локальним етичним комітетом зазначеної в роботі установи. На проведення досліджень отримано інформовану згоду батьків, дітей.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Ключові слова: вітамін D, *Lactobacillus reuteri* DSM 17938, діти раннього віку, сапліментация.

Effects of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 and vitamin D combination on the level of 25(OH)D in blood serum of young children

M.E. Mamenko, M.R. Romanko

Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine

Background. The search for optimal vitamin D levels and supplementation approaches to provide a wide range of preventive effects on the human body remains the focus of the world's specialists. One of the promising directions is to improve the absorption of vitamin D in the gastrointestinal tract by using probiotics.

Objective: to study the effect of using a combination of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 with vitamin D on the serum level of 25(OH)D in young children.

Materials and methods. A total of 56 children from 1 to 36 months of age with the signs of functional gastrointestinal disorders were examined; 45 of them were randomized to participate in the comparative efficacy study of using a combination of 400 IU of cholecalciferol and 10⁸ CFU of viable *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 bacteria and an oily vitamin D solution at a dose of 500 IU for 12 weeks. At the start and the end of the study, the indicators of calcium and phosphorus metabolism (25(OH)D, total and ionized calcium, inorganic phosphorus, alkaline phosphatase) and the serum levels of total IgE were determined in all children, and the dynamics of the functional status of the gastrointestinal tract was assessed.

Results. At baseline, the median serum concentration of 25(OH)D in children was 30.3 ng/mL (23.2–41.2); this indicator exceeded 30 ng/mL only in 53.3 ± 7.4% (24/45) of cases. The use of a combination of vitamin D₃ with *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 made it possible to reach a statistical difference in the median concentration of 25(OH)D after 12 weeks of use compared to the same indicator at baseline: 37.4 ng/mL (30.2–52.3) versus 28.3 ng/mL (20.8–42.9), $p = 0.000$. The level of 25(OH)D in all these children exceeded 20 ng/mL; the concentration level of 25(OH)D exceeded 30 ng/mL in 75.0 ± 8.8% (18/24) of these. The use of 400 IU of vitamin D supplements in combination with *L. reuteri* for 12 weeks made it possible to reduce the median concentration of total IgE by almost half — from 64.1 IU/mL (9.2–120.0) to 31.9 IU/mL (6.4–143.6) but with significant individual variability of data. The use of vitamin D supplements in combination with *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 had a positive effect on the functional activity of the gastrointestinal tract in young children and significantly reduced the frequency of parents' complaints of stool retention and anxiety during defecation in their children.

Conclusions. The use of vitamin D₃ supplements at a dose of 400 IU in combination with the probiotic strain *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 has a positive effect on the functional status of the gastrointestinal tract in young children and increases the serum level of 25(OH)D. The effects of vitamin D in combination with *L. reuteri* in children with a burdened history of allergies require further study.

Key words: vitamin D; *Lactobacillus reuteri* DSM 17938; young children; supplementation.

Влияние применения комбинации *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 с витамином D на уровень 25(OH)D в сыворотке крови детей раннего возраста**М.Е. Маменко, М.Р. Романько**

Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, г. Киев, Украина

Поиск оптимальных уровней витамина D и подходов к саплиментации с целью обеспечения широкого спектра профилактических эффектов для организма человека остаются в центре внимания специалистов всего мира. Одно из перспективных направлений — улучшение абсорбции витамина D в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) путем применения пробиотиков.

Цель — изучить влияние применения комбинации *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 с витамином D в дозе 400 МЕ на уровень 25(OH)D в сыворотке крови детей раннего возраста.

Материалы и методы. Обследовано 56 детей в возрасте 1–36 месяцев с признаками нарушения функционирования ЖКТ. Среди них 45 детей рандомизированы для участия в сравнительном исследовании эффективности применения комбинации 400 МЕ холекальциферола и 10^8 КОЕ жизнеспособных бактерий *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 (основная группа — 24 ребенка) и масляного раствора витамина D в дозе 500 МЕ (контрольная группа — 21 ребенка) в течение 12 недель. У всех детей в начале и в конце исследования определены показатели кальциево-фосфорного обмена (25(OH)D, кальций общий и ионизированный, фосфор неорганический, ЩФ) и уровни общего IgE в сыворотке крови, оценена динамика функционального состояния ЖКТ.

Результаты. В начале исследования медиана концентраций 25(OH)D в сыворотке крови детей составила 30,3 нг/мл (23,2–41,2), при этом только в 53,3±7,4% случаев (24/45) данный показатель превышал 30 нг/мл. Применение комбинации витамина D₃ с *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 позволило достичь статистической разницы медианы концентрации 25(OH)D через 12 недель по сравнению с аналогичным показателем в начале исследования: 37,4 нг/мл (30,2–52,3) против 28,3 нг/мл (20,8–42,9), $p=0,000$. Уровень 25(OH)D у этих детей превышал 20 нг/мл, из них 75,0±8,8% (18/24) имели уровень концентрации 25(OH)D более 30 нг/мл. Прием саплиментов витамина D 400 МЕ в сочетании с *Lactobacillus reuteri* в течение 12 недель позволил снизить медиану концентрации общего IgE практически вдвое — с 64,1 МЕ/мл (9,2–120,0) до 31,9 МЕ/мл (6,4–143,6), но со значительным индивидуальным разбросом данных. Применение саплиментов витамина D в комбинации с *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 положительно влияло на функциональную активность ЖКТ у детей раннего возраста, достоверно снижая частоту жалоб родителей на задержку стула, беспокойство во время дефекаций у их детей.

Выводы. Использование саплиментов витамина D₃ в дозе 400 МЕ в комбинации с пробиотическим штаммом *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 положительно влияет на функциональное состояние ЖКТ детей раннего возраста и повышает содержание 25(OH)D в сыворотке крови. Эффекты применения комбинации витамина D с *Lactobacillus reuteri* у детей с отягощенным аллергологическим анамнезом требуют дальнейшего изучения.

Исследование выполнено в соответствии с принципами Хельсинской Декларации. Протокол исследования утвержден Локальным этическим комитетом указанного в работе учреждения. На проведение исследований получено информированное согласие родителей, детей.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Ключевые слова: витамин D, *Lactobacillus reuteri* DSM 17938, дети раннего возраста, саплиментация.

Вступ

Відкриття рецепторів до вітаміну D (VDR, Vitamin D Receptor) у різних органах і тканинах організму людини суттєво змінило уявлення про біологічну роль цього вітаміну. У цей час під традиційною назвою «вітамін D» розуміють групу жиророзчинних сполук, що, завдяки утворенню зі стеринів і механізму реалізації функції шляхом впливу через VDR на геном клітини, належать до числа гормонів. Накопичені людством дані свідчать про те, що дефіцит вітаміну D асоціюється не тільки з порушенням обміну кальцію та фосфору, як вважалося раніше, але й з чисельними негативними впливами на серцево-судинну систему та імунну відповідь, а також з ожирінням, цукровим діабетом, онкологічними захворюваннями тощо [1,2,10,12,18,19].

Вітамін D має частково ендегенне походження, оскільки його окремі метаболіти синтезуються в шкірі під впливом ультрафіолетового випромінювання (УФВ), та належить до числа мікронутрієнтів, адже також надходить із продуктами харчування, що містять жири рибацького та тваринного походження. Сучасні тенденції здорового способу життя передбачають відмову від вживання жирної їжі та до

обмеження часу перебування під безпосереднім впливом сонячних променів на оголену шкіру. Саме з цих причин дефіцит вітаміну D став світовою проблемою. Не є винятком і Україна. Так, В.В. Поворознюк та співавтори вказують на високу частоту дефіциту вітаміну D серед школярів (до 92%) та дорослого населення країни (до 81%) [16]. Ці дані збігаються з даними ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України» (Ю.Г. Антипкін, Л.І. Омельченко, Л.В. Квашніна та ін.), які вказують на те, що рівень 25(OH)D у сироватці крові майже 30% клінічно здорових дітей м. Києва віком до 3 років становить <15 нг/мл, що відповідає глибокому дефіциту [11].

Необхідність проведення саплиментації вітаміну D серед дітей раннього віку для профілактики рахіту є загальноновизнаним фактом. Водночас оптимальні рівні концентрації вітаміну D у сироватці крові та норми його щоденного надходження з продуктами харчування для забезпечення чисельних позаскелетних ефектів залишаються предметом жвавої наукової дискусії [6,7,12].

Так, експерти Європейської академії педіатрії (ЕАР) вважають, що даних для визначення рекомендованих рівнів 25(OH)D у сироватці

крові недостатньо, проте підтримують призначення сапліментації холекальциферолу у дозі 400 МО всім дітям першого року життя. Для дітей більш старшого віку рекомендують враховувати індивідуальні фактори ризику, сезонні коливання сонячного опромінення та розробляти національні рекомендації з урахуванням можливої фортифікації продуктів харчування в країні. Однак зазначають, що для дітей віком від 1 року сумарне надходження мікронутрієнту в організм не має бути <600 МО/добу. В офіційній позиції ЕАР також зазначається, що, відповідно до рекомендацій Європейського органу з безпеки харчових продуктів (European Food Safety Authority), верхня межа безпечного надходження має становити 1000 МО/добу для немовлят, 2000 МО/добу – для дітей віком від 1 до 10 років та 4000 МО/добу – для дітей та підлітків віком від 11 до 17 років [5].

Американська академія педіатрії (AAP) також рекомендує проводити сапліментацію відразу після народження дитини, що знаходиться на грудному вигодовуванні, у дозі 400 МО на добу і зазначає, що сапліментацію можна не проводити дитині, яка знаходиться на штучному вигодовуванні, за умови, що вона з'їдає достатній об'єм, щоб отримати принаймні 400 МО холекальциферолу на добу. Фахівці цієї організації вважають достатнім для профілактики рахіту рівень 25(OH)D у сироватці крові >20 нг/мл (>50 нмоль/л), проте вказують, що для досягнення більш широкого спектра позитивних ефектів для організму може знадобитися рівень >30 нг/мл. AAP рекомендує продовжувати сапліментацію на тому ж рівні старшим дітям та підліткам, якщо вони не отримують регулярно фортифікованих продуктів. Однак експерти визнають, що для дітей із груп ризику (синдроми мальабсорбції, застосування протисудомних препаратів тощо) профілактичної дози 400 МО може бути недостатньо. У таких випадках рекомендують визначати рівень 25(OH)D та проводити сапліментацію вищими дозами холекальциферолу з подальшим контролем кожні 3 місяці до нормалізації статусу вітаміну D [20].

Автори Глобальних консенсусних рекомендацій із попередження та лікування рахіту також вважають достатнім рівень 25(OH)D у сироватці крові >20 нг/мл (>50 нмоль/л) та рекомендують дітям першого року життя давати сапліменти у дозі 400 МО, а дітям від 1 року забезпечувати щоденне надходження на рівні принаймні 600 МО. Сапліментацію вва-

жають обов'язковою для дітей раннього віку [14].

Проте існують думки, що надходження на такому рівні не є ефективною стратегією подолання дефіциту вітаміну D на популяційному рівні. Зокрема, M.F. Holick та P. Pludowski. при концентрації 25(OH)D у сироватці крові <20 нг/мл (<50 нмоль/л) рекомендують для новонароджених сапліментацію в дозі 1000 МО/добу, а для немовлят від 1 місяця та дітей раннього віку – 2000–3000 МО/добу [15].

Цю думку поділяють фахівці ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України», які вказують на недостатню ефективність використання профілактичної дози 500 МО, рекомендованої попередніми нормативними актами МОЗ України, для профілактики рахіту в дітей перших 3 років життя. На V Конгресі педіатрів України (15–17 жовтня 2008 року) прийнято рекомендації, в яких для дітей цього ж віку профілактичною дозою вітаміну D визначено 1000–2000 МО.

Факторами ризику розвитку дефіциту вітаміну D є не тільки зменшення синтезу в умовах уникання УФВ та недостатнє надходження вітаміну D з їжею, але й такі фактори, як колір шкіри, наявність ожиріння, порушення продукції вітамін-D-зв'язуючого протеїну, функціональний стан шлунково-кишкового тракту (ШКТ), наявність синдромів мальабсорбції тощо.

Останнім часом накопичуються дані щодо взаємозв'язку між станом мікробіому людини та абсорбцією мікронутрієнтів, зокрема вітаміну D, і навпаки, про вплив дефіциту вітаміну D на функціональний стан ШКТ [11]. Вивчається можливість втручання в ці процеси шляхом застосування пробіотиків.

Так, у 2012 р. групою канадських вчених M.L. Jones, C.J. Martoni & S. Prakash проведено дослідження, в якому показано, що на тлі використання пробіотичного штаму *Lactobacillus reuteri* NCIMB 30242 знижувався рівень ліпопротеїнів низької щільності і холестерину, що корелювало зі збільшенням декон'югованих жовчних кислот у сироватці крові. Автори припустили, що порушення абсорбції холестеринних стеринів може призводити до зменшення всмоктування жиророзчинних вітамінів [8]. Але у 2013 р. тією ж групою вчених встановлено, що використання *Lactobacillus reuteri* NCIMB 30242 сприяє лише підвищенню рівня 25(OH)D, тоді як концентрація вітамінів А і Е залишається незмінною [9]. Науковці дійшли

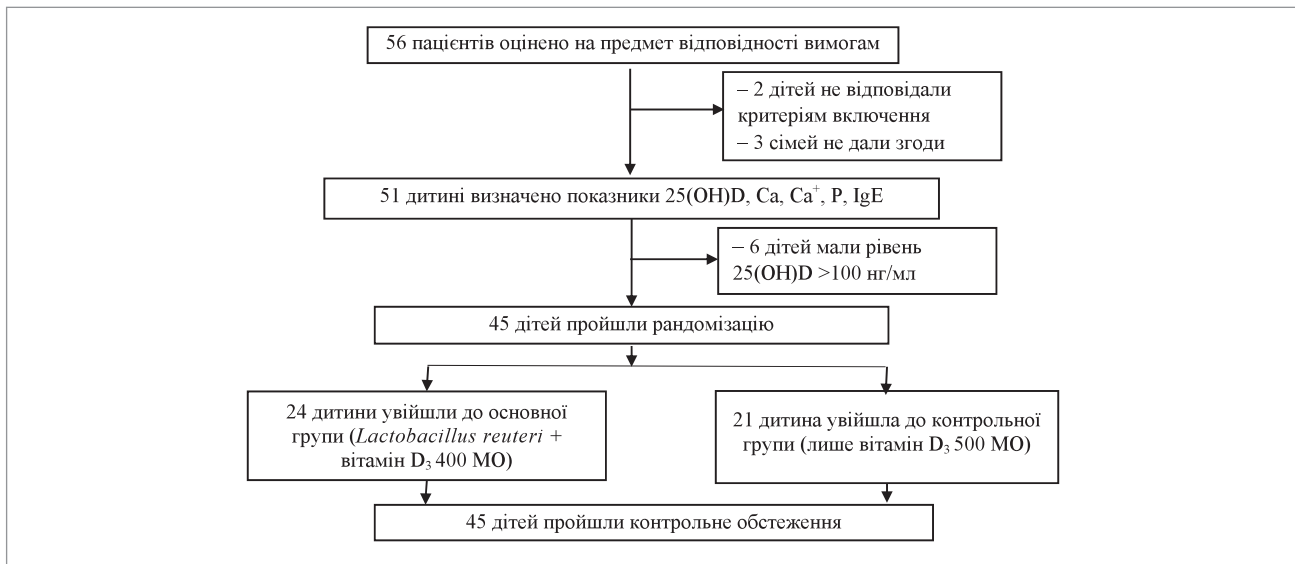


Рис. 1. Дизайн дослідження

висновку, що такий ефект можна пояснити підвищенням активності печінкової 25-гідроксилази або збільшенням синтезу 7-дегідрохолестерину. Дослідження показало, що підвищення абсорбції вітаміну D пов'язане з підвищеною концентрацією іонів водню, або зниженням рН у кишечнику, а не з підвищеною концентрацією кон'югованих жовчних кислот [9].

Сьогодні на ринку присутні комбіновані препарати *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 із вітаміном D, які довели свої переваги над ізольованим використанням цього пробіотичного штаму для профілактики та лікування функціональних гастроінтестинальних розладів у дітей раннього віку [17]. Але вплив такої комбінованої добавки на рівень вітаміну D у сироватці крові ще не вивчений.

Мета дослідження — вивчити вплив застосування комбінації *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 із вітаміном D у дозі 400 МО на рівень 25(OH)D у сироватці крові дітей раннього віку.

Матеріали та методи дослідження

До проспективного рандомізованого порівняльного дослідження залучено 56 дітей віком 1–36 місяців (рис. 1), батьки яких звернулися по допомогу у зв'язку зі скаргами на порушення функціонування ШКТ у їхніх дітей до Київської міської дитячої клінічної лікарні № 1. Дослідження проведено після одержання висновку етичної комісії при Національній медичній академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика.

Після надання детальної інформації про дослідження та отримання попередньої згоди на участь у ньому серед батьків проведено анкетування за допомогою спеціально розробленого опитувальника, який дав змогу систематизувати інформацію про наявність і характер скарг із боку ШКТ, наявність проявів і факторів ризику виникнення дефіциту вітаміну D, загальних ознак порушень розвитку і стану здоров'я дитини, виключення «червоних прапор-

Таблиця 1

Характеристика досліджуваних дітей за віком, статтю і станом здоров'я, а також за вихідним рівнем 25(OH)D

Показник	Основна група (вітамін D 400 МО+ <i>Lactobacillus reuteri</i> DSM 17938) (n=24)	Контрольна група (вітамін D 500 МО) (n=21)
Стать		
— жіноча	7 (29%)	7 (33%)
— чоловіча	17 (71%)	14 (67%)
Вік		
— від 0 до 12 міс	5 (21%)	4 (19%)
— від 12 до 24 міс	13 (54%)	12 (57%)
— від 24 до 36 міс	6 (25%)	5 (24%)

ців» органічних і/або запальних захворювань. Загальний огляд, антропометричні вимірювання, оцінка фізичного та нервово-психічного розвитку, інші додаткові дослідження здійснено відповідно до Клінічного протоколу медичного догляду за здоровою дитиною віком до 3 років (наказ МОЗ України від 20.03.2008 № 149). Також виконано рутинні обстеження для встановлення відповідності скарг Римським критеріям IV перегляду. Згідно з критеріями включення/виключення, до дослідження не залучено пацієнтів із маніфестними проявами рахіту, дітей, які народилися недоношеними, із затримкою внутрішньоутробного розвитку, вадами розвитку, ознаками імуносупресивних станів, протипоказаннями до застосування препаратів вітаміну D, а також дітей, батьки яких не надали письмової згоди на подальшу участь дітей у дослідженні.

На другому етапі у всіх дітей визначено рівні 25(OH)D, кальцію загального та іонізованого, неорганічного фосфору, лужної фосфатази, рівнів загального IgE. З подальшого дослідження вилучено пацієнтів, в яких концентрація 25(OH)D у сироватці крові перебільшувала потенційно небезпечний рівень 100 нг/мл.

45 осіб, які пройшли відбір, рандомізовано на 2 групи: основна група — 24 дитини, які отримували щодня 5 крапель олійного розчину, що містить 400 МО холекальциферолу і 10^8 КУО життєздатних бактерій *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 (*Lactobacillus reuteri* Protectis™); контрольна група — 21 дитина, яка отримувала 1 краплю олійного розчину із вмістом 500 МО холекальциферолу (стандартна профілактична доза відповідно до чинних на момент дослідження рекомендацій МОЗ України). Групи були зіставними за віком, статтю і станом здоров'я, а також за вихідним рівнем 25(OH)D (табл. 1).

Батькам запропоновано вести щоденник спостереження за дитиною за спеціально розробленою формою, в якому, крім позначки про застосування сапліментів, відмічалася динаміка скарг із боку ШКТ дитини (частота та інтенсивність), потенційні ознаки інших захворювань.

Контрольні дослідження проведено через 3 місяці (12 тижнів), які за обсягом і методологією відповідали первинному обстеженню.

Результати дослідження опрацьовані статистично за допомогою стандартизованих засобів Microsoft Excel 2010 та пакету прикладних програм Statistica 10.0. Характер розподілу

визначено за критерієм Shapiro-Wilk. Якісні показники у статті наведено у вигляді абсолютних величин та їхніх похибок ($M \pm m$), із них розраховано відносні (%), у форматі n/N , де n — кількість випадків, а N — розмір відповідної групи. Враховуючи асиметричний характер розподілу, описову статистику для кількісних показників наведено у вигляді медіани та інтерквартильного розмаху — $Me (Q_1-Q_3)$, де Me — медіана, Q_1 і Q_3 — 25 та 75 квартилі відповідно. Порівняння якісних показників проведено за допомогою критерію χ^2 Пірсона. Кількісні показники оцінено за критерієм Mann-Whitney U — для незалежних груп та критерієм Wilcoxon — для залежних груп. За критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймали $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Наявність різноманітних скарг функціонального характеру з боку ШКТ є типовим явищем для дітей раннього віку. Це пов'язано з анатомічною та функціональною незрілістю власне ШКТ, регуляторних систем організму дитини, несформованістю мікробіому, значною залежністю від факторів навколишнього середовища тощо. У більшості випадків ці проблеми є транзиторними і зникають у міру зростання дитини без додаткових медичних утручань. Але навіть помірні клінічні прояви функціональних порушень із боку ШКТ у дітей раннього віку можуть викликати значну стурбованість у дорослих, які за ними доглядають, та бути приводом для звернення по медичну допомогу.

Батьки дітей, залучених у дослідження, при зверненні до педіатра висловлювали такі скарги в їхніх дітей: болісні дефекації — $28,9 \pm 6,1\%$ (13/56); дефекації 1 раз на 2 доби — $28,9 \pm 6,1\%$ (13/56); тверді випорожнення — $14,3 \pm 4,9\%$ (8/56). У $10,7 \pm 4,2\%$ (6/56) випадків батьки стверджували, що дефекації в дітей були в середньому 2 рази на тиждень та відмічалася більш тривала затримка дефекації в анамнезі. У дітей першого року життя спостерігалися такі симптоми, як зригування — $88,9 \pm 10,5\%$ (8/9). У $5,5 \pm 3,8\%$ (2/36) дітей віком від 1 року випорожнення були неоформленими зазвичай частіше 3 разів на добу. У $40,0 \pm 6,5\%$ (18/56) дітей відмічалася відразу декілька клінічних проявів дисфункції ШКТ.

У більшості дітей скарги за своєю тривалістю, інтенсивністю, частотою не відповідали Римськими критеріями IV, встановити певний діагноз функціональних гастроінтестинальних

розладів було неможливо. Лише у 10,7±4,2% (6/56) дітей була повна відповідь критеріям функціонального закріпу. Проте всі батьки, що звернулися по допомогу, були стурбовані наявністю клінічних проявів дисфункції з боку ШКТ у дітей.

Аналіз анкетування також показав наявність у більшості дітей факторів ризику розвитку дефіциту вітаміну D. Так, незважаючи на те, що проведення профілактики рахіту та інших станів, пов'язаних із дефіцитом вітаміну D, дітям раннього віку вважається обов'язковим, сапліmentaцію на момент включення в дослідження отримували лише 40,0±6,5% (18/56) обстежених дітей. Серед дітей першого року життя профілактичні засоби використовувалися частіше – у 66,7±11,1% (12/18) випадків. На другому році життя своїм дітям давали вітамін D 25,0±8,8% (6/24) батьків. Дітям від 2 років у жодному випадку профілактика дефіциту вітаміну D проводилася (0/14).

Крім відсутності сапліmentaції та нерегулярного застосування добавок, діти мали також інші фактори ризику розвитку дефіциту вітаміну D: у 55,5±6,6% (25/56) випадків вік матері

на момент зачаття становив від 30 років; 28,9±6,1% (13/56) респондентів вказували на наявність хронічних захворювань ШКТ або нирок у мами і/або в дитини; у 82,2±5,1% (37/56) матерів відмічався патологічний перебіг вагітності. Жодна мама не застосовувала сапліментів вітаміну D під час вагітності, однак 40,0±6,5% (18/56) періодично отримували комплекси вітамінів і мінералів, які містили холекальциферол.

Діти, які пройшли перший етап відбору, мали широкий розкид індивідуальних значень рівня 25(OH)D із медіаною 34,6 нг/мл (23,4–47,7). У тих дітей, що на момент дослідження отримували сапліменти вітаміну D (n=18), рівні 25(OH)D були вищими з медіаною 61,76 нг/мл (41,3–124,1) і статистично відрізнялися від аналогічного показника в тих дітей, батьки яких вказували на проведення сапліmentaції в минулому (n=26), – 28,1 нг/мл (23,1–38,9), p=0,000, та в дітей, які взагалі ніколи не отримували сапліментів (n=7) – 30,1 нг/мл (12,4–33,4), p=0,006. Достовірної різниці між дітьми, батьки яких припинили профілактику рахіту, та тими, які її взагалі не отримували, не було – p=0,290.

Таблиця 2

Показники фосфорно-кальцієвого обміну та рівнів IgE в динаміці

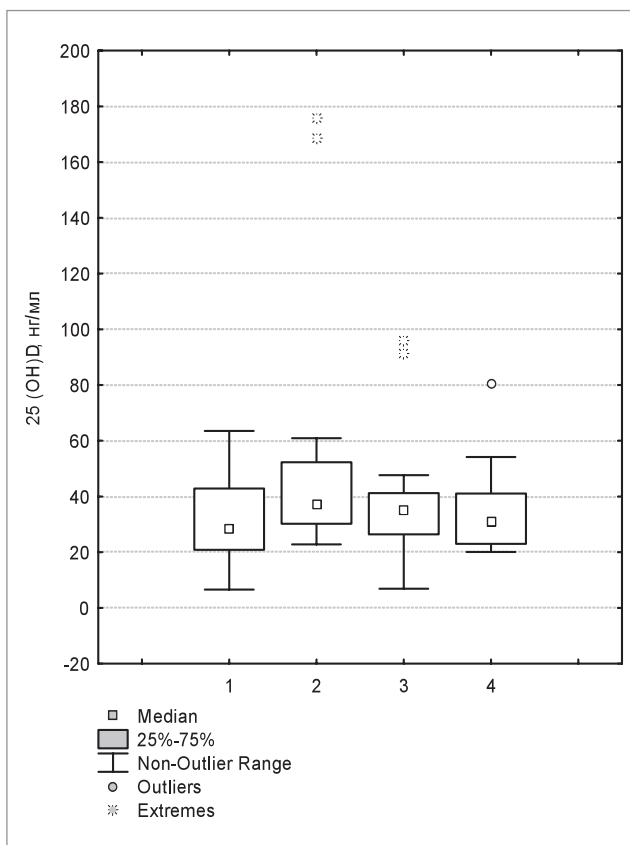
Показник	Me (Q1–Q3)		p1
	основна група (вітамін D 400 МО+ <i>Lactobacillus reuteri</i> DSM 17938) (n=24)	контрольна група (вітамін D 500 МО) (n=21)	
25(OH)D, нг/мл			
тиж 0	28,3 (20,8–42,9)	35,2 (26,4–41,2)	0,06
тиж 12	37,4 (30,2–52,3)	31,3 (23,0–41,0)	
p2	0,00	0,69	
Кальцій іонізований, ммоль/л			
тиж 0	1,1 (1,0–1,1)	1,0 (1,0–1,1)	0,77
тиж 12	1,0 (1,0–1,1)	1,0 (1,0–1,1)	
p2	0,85	0,85	
Кальцій загальний, ммоль/л			
тиж 0	2,5 (2,4–2,6)	2,5 (2,4–2,6)	0,23
тиж 12	2,5 (2,5–2,6)	2,5 (2,5–2,5)	
p2	0,12	0,60	
Фосфор неорганічний, ммоль/л			
тиж 0	1,8 (1,6–1,9)	1,7 (1,5–1,8)	0,91
тиж 12	1,7 (1,6–2,0)	1,8 (1,6–1,9)	
p2	0,64	0,41	
Лужна фосфатаза, Од/л			
тиж 0	244,0 (212,5–300,5)	231,0 (216,0–254,0)	0,39
тиж 12	259,5 (234,5–312,0)	263,0 (217,0–283,0)	
p2	0,08	0,17	
IgE загальний, МО/мл			
тиж 0	64,1 (9,2–120,0)	10,3 (3,9–28,8)	0,07
тиж 12	31,9 (6,4–143,6)	11,1 (5,9–21,3)	
p2	0,84	0,45	

Із подальшого дослідження вилучали пацієнтів, в яких концентрація 25(OH)D у сироватці крові перебільшувала потенційно небезпечний рівень 100 нг/мл. Таких дітей було 6 віком 1–9 місяців, які на момент скринінгу для участі в дослідженні протягом декількох місяців отримували сапліменти вітаміну D: одна (16,7±15,2%, 1/6) дитина – олійний розчин вітаміну D, інші (83,3±15,2%, 5/6) – водний розчин. Високий рівень 25(OH)D міг спостерігатися як у пацієнтів, які отримували сапліментацію в добовій дозі 1000 МО холекальциферолу (50,0±20,4%, 3/6), так і в тих, що отримували лише 500 МО вітаміну D на добу. П'ятеро з цих дітей перебували на виключно грудному вигодовуванні і лише одна дитина – на штучному. В останньому випадку дівчинка віком 7 міс. отримувала неонатальну формулу з вмістом 0,9 мкг (36 МО) холекальциферолу у перерахунку на 100 мл готової суміші та додатково регулярно отримувала олійний розчин холекальциферолу в дозі 1000 МО.

Медіана концентрацій 25(OH)D у сироватці крові дітей, рандомізованих для участі в дослідженні, була на рівні 30,3 нг/мл (23,2–41,2) з індивідуальними коливаннями від 6,59 нг/мл до 96,0 нг/мл. На початку дослідження 22,2±6,2% (10/45) дітей мали рівень 25(OH)D <20 нг/мл, що є недостатнім для профілактики порушень кальцієвого обміну та інших патологічних станів, асоційованих із недостатністю вітаміну D. У 6,7±3,7% (3/45) дітей, рандомізованих для участі в дослідженні, загальний рівень 25(OH)D був навіть <10 нг/мл, що відповідає глибокому дефіциту. Лише у 53,3±7,4% (24/45) дітей цей показник перевищував 30 нг/мл, що є рівнем, який забезпечує широкий спектр профілактичних ефектів. Групи на початку дослідження були зіставними за рівнями 25(OH)D та іншими показниками кальцієво-фосфорного обміну (табл. 2). Незважаючи на те, що середні показники загального та іонізованого кальцію, неорганічного фосфору, лужної фосфатази в групах залишалися в межах вікових норм, вони мали достатньо широкий діапазон індивідуальних коливань. Так, рівень загального кальцію був на початку дослідження зниженим у 4,4±3,1% (2/45) обстежених дітей, кальцію іонізованого – у 55,5±7,4% (25/45), фосфору – у 13,3±5,1% (6/45) пацієнтів, що може свідчити про порушення всмоктування цих мікроелементів у ШКТ як унаслідок неефективної регуляції цих процесів при недостатній забезпеченості

вітаміном D, так і через порушені функції власне ШКТ. Крім того, підвищення рівня лужної фосфатази у 22,2±6,2% (10/45) обстежених дітей свідчило на користь підвищення абсорбції кальцію з кісткової тканини для підтримання гомеостатичного балансу у крові. Існував достовірний середньої сили щільний прямий кореляційний зв'язок між концентрацією 25(OH)D і рівнем загального ($r=0,552$, $p=0,005$) та іонізованого кальцію ($r=0,450$, $p=0,027$).

Контрольні дослідження продемонстрували, що застосування в дітей основної групи комбінації вітаміну D3 у дозі 400 МО з пробіотичним штамом *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 дало змогу досягти статистичної різниці медіани концентрації 25(OH)D через 12 тижнів порівняно з аналогічним показником на початку дослідження: 37,4 нг/мл (30,2–52,3) проти 28,3 нг/мл (20,8–42,9) відповідно ($p=0,000$). Зниження рівня 25(OH)D із 51,37 нг/мл до 39,81 нг/мл на тлі застосування вітаміну D3 у комбінації з *Lactobacillus reuteri* спостерігалося лише в одного хлопчика з групи ризику (4,2±4,1%) (1/24), який до використання досліджуваного препарату приймав вітамін D у дозі



Примітки: 1 – основна група (0 тиж), 2 – основна група (vit D 400 МО + L.reuteri, 12 тиж), 3 – контрольна група (0 тиж), 4 – контрольна група (vit D 500 МО, 12 тиж).

Рис. 2. Рівень 25(OH)D у сироватці крові дітей раннього віку залежно від методу сапліментації

1000 МО, тобто зниження було відносним порівняно з досить високим базовим показником. Ще один хлопчик віком 7 місяців продемонстрував несуттєве зниження рівня 25(OH)D із 47,79 нг/мл до 38,91 нг/мл. Незважаючи на відсутність позитивної динаміки, в обох випадках вдалося утримувати концентрацію метаболіту на рівні, що забезпечує широкий профіль профілактичних ефектів. Постійне застосування комбінації вітаміну D в дозі 400 МО з *Lactobacillus reuteri* протягом 12 тижнів у двох дітей різної статі з однієї родини (двійня віком 15 місяців) сприяло максимальному підвищенню рівня 25(OH)D у крові: з 63,5 нг/мл до 176,0 нг/мл у хлопчика та з 60,0 нг/мл до 168,5 нг/мл у дівчинки. Під час контрольного дослідження в усіх дітей основної групи рівень 25(OH)D становив >20 нг/мл, з них 75,0±8,8% (18/24) обстежених мали концентрацію 25(OH)D >30 нг/мл.

У дітей контрольної групи, які застосовували олійний розчин чистого вітаміну D у дозі 500 МО, медіана концентрації 25(OH)D у крові після 12 тижнів сапліментації достовірно не відрізнялася від такої на початку дослідження: 31,3 нг/мл (23,0–41,0) проти 35,2 нг/мл (26,4–41,2) відповідно (p=0,689). У 57,1±10,8% (12/21) пацієнтів цієї групи рівень 25(OH)D був дещо нижчим, ніж на початку дослідження, але залишався достатнім (>20 нг/мл). Найгірше спрацьовувала сапліментація вітаміном D у дозі 500 МО у дітей, які взагалі почали отримувати добавки холекальциферолу відносно пізно (після 6 місяців життя) та не отримували їх на початку дослідження. У 4 дітей цієї групи (19,0±8,6%, 4/21), що до початку дослідження мали 25(OH)D на рівні <20 нг/мл, 12-тижневе застосування холекальциферолу в дозі 500 МО було достатнім для досягнення рівня цього показника в межах 20–30 нг/л. У дітей, які на початку дослідження отримували сапліменти в будь-якій формі, незалежно від дози, але при достатньому вихідному рівні 25(OH)D у сироватці крові, продовження сапліментації олійним розчином холекальциферолу було достатнім для підтримання 25(OH)D на рівні >20 нг/мл (рис. 2).

Отже, за час проведення дослідження медіана концентрації 25(OH)D в основній групі зросла на 32,2%, а у групі контролю знизилася на 11,1%. Хоча статистичної різниці між контрольними показниками груп не досягнуто (p=0,06), що можна пов'язати з недостатньою потужністю дослідження, простежено чітку тен-

денцію до поліпшення абсорбції вітаміну D у разі його комбінації з *Lactobacillus reuteri* DSM 17938. Застосування сапліментів вітаміну D у поєднанні з *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 позитивно вплинуло на функціональну активність ШКТ у дітей раннього віку, що взяли участь у дослідженні. Спостерігалася тенденція до пом'якшення консистенції випорожнень та збільшення частоти дефекацій, за рахунок чого зникали скарги на ознаки болісних дефекацій у дітей. Так, батьки, яких на початку дослідження турбувала частота випорожнень у дітей до 3 разів на тиждень, зазначали, що з 8-го тижня спостереження у дітей були випорожнення щодня (p=0,029). Вже на 4-му тижні спостереження у дітей цієї групи зменшилася частота болісних дефекацій, і наприкінці 3-го місяця застосування препарату жодна дитина не виявляла ознаки занепокоєння та плачу під час акту дефекації (p=0,029). До цієї групи спостереження увійшли 2 дітей із діагнозом «функціональний закреп», у яких на тлі застосування препарату також нормалізувалися випорожнення, але у зв'язку з незначною кількістю спостережень статистичної різниці не досягнуто. Позитивна динаміка спостерігалася в пацієнтів, які на початку дослідження мали зригування та рідкі випорожнення, але через те, що ці діти були віком до року та не мали за додатковими критеріями відповідності певним діагнозам функціональних гастроінтестинальних розладів, не можна впевнено пов'язати цю динаміку із застосуванням препарату, оскільки при спостереженні протягом 12 тижнів ці скарги могли зникнути внаслідок поступового формування функції нижнього стравохідного сфінктера та дозрівання ферментативної активності ШКТ. У пацієнтів контрольної групи, які застосовували тільки вітамін D у дозі 500 МО, достовірна динаміка клінічних проявів гастроінтестинальної дисфункції не спостерігалася, але також протягом дослідження зменшилася частота зригувань. Батьки пацієнтів контрольної групи не відмічали позитивної динаміки характеристик випорожнень (нормалізація частоти випорожнень, пом'якшення консистенції або зникнення занепокоєння під час дефекації).

Сьогодні активно вивчається роль дефіциту вітаміну D у патогенезі різних захворювань, у тому числі патології ШКТ та алергічних захворювань [16]. Існують джерела, що вказують на ефективність застосування *Lactobacillus reuteri* у зменшенні чутливості до алергенів та зниженні рівнів IgE у пацієнтів з алергічним

статусом, зокрема, у дітей з atopічним дерматитом [3,4]. Під час проведеного дослідження проаналізовано алергологічний анамнез пацієнтів та визначено загальний рівень IgE (рис. 3).

У $53,3 \pm 7,4\%$ (24/45) дітей, що увійшли в дослідження, був обтяжений алергоанамнез, серед них $29,2 \pm 9,3\%$ (7/24) мали харчову алергію, у $58,3 \pm 10,1\%$ (14/24) алергічні захворювання були в членів родини дитини, а у $12,5 \pm 6,8\%$ (3/24) спостерігалось поєднання обтяженого особистого та сімейного алергоанамнезу.

Існував певний зв'язок між рівнями IgE, статусом вітаміну D і застосуванням сапліментів, що містять *Lactobacillus reuteri* DSM 17938.

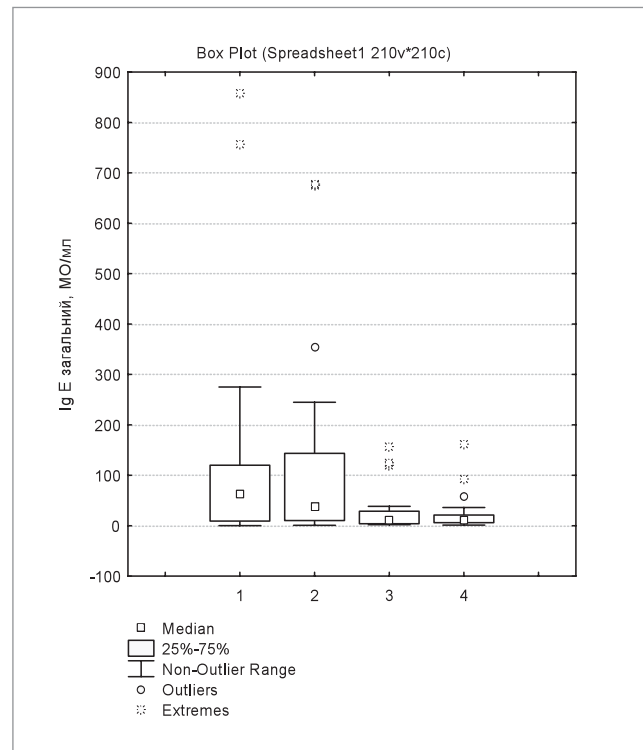
Підвищення рівня загального IgE визначалося у $26,7 \pm 6,6\%$ (12/45) із загального числа дітей, залучених у дослідження. Між рівнем 25(OH)D і рівнем IgE встановлено достовірний середньої сили щільний зворотний кореляційний зв'язок ($r = -0,409$, $p = 0,047$). Усі діти з високими рівнями загального IgE мали на момент первинного обстеження концентрацію 25(OH)D у сироватці крові < 30 нг/мл. Застосування сапліментів вітаміну D в дозі 400 МО у поєднанні з *Lactobacillus reuteri* протягом 12 тижнів дало змогу знизити медіану концентрації загального IgE практично вдвічі — з $64,1$ МО/мл ($9,2$ – $120,0$) до $31,9$ МО/мл ($6,4$ – $143,6$), але достовірної різниці не досягнуто через значний розкид даних.

Значно зріс рівень IgE у $16,7 \pm 7,6\%$ (4/24) пацієнтів, які незадовго до контрольного дослідження мали загострення алергічного захворювання. Водночас у $45,8 \pm 10,2\%$ (11/24) дітей спостерігалася виразна позитивна динаміка. Порівняння з групою контролю також не дало змоги зробити остаточних висновків, враховуючи малий обсяг вибірки. Але діти з високими рівнями IgE повільніше реагували на сапліментацію чистим вітаміном D, причому за 12 тижнів спостереження в жодного з цих пацієнтів не вдалося досягти 25(OH)D на рівні > 30 нг/мл.

Висновки

Дефіцит вітаміну D залишається поширеним явищем серед дітей раннього віку. Майже чверть обстежених дітей на початку дослідження мала 25(OH)D на рівні < 20 нг/мл, і ще чверть — у межах 20 – 30 нг/мл.

Сапліментація є ефективним засобом підвищення рівня 25(OH)D у крові дітей раннього



Примітки: 1 — основна група (0 тиж), 2 — основна група (vit D 400 МО + *L.reuteri*, 12 тиж), 3 — контрольна група (0 тиж), 4 — контрольна група (vit D 500 МО, 12 тиж).

Рис. 3. Рівень загального IgE у сироватці крові дітей раннього віку залежно від методу сапліментації

віку, але тривале використання засобів із високим вмістом холекальциферолу і/або їх комбінація з іншими фортифікованими продуктами можуть в окремих дітей призводити до надмірних рівнів цього показника.

Комбінація вітаміну D₃ у дозі 400 МО з пробіотичним штамом *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 протягом 12 тижнів дала змогу підвищити медіану концентрації 25(OH)D у сироватці крові на $32,2\%$ ($p = 0,000$) та досягти його на рівні > 30 нг/мл у $75,0 \pm 8,8\%$ обстежених.

Застосування сапліментів вітаміну D у поєднанні з *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 позитивно вплинуло на функціональну активність ШКТ у дітей раннього віку, достовірно знижуючи частоту скарг батьків на затримку випорожнень, занепокоєння під час дефекацій в їхніх дітей.

Ефекти застосування вітаміну D у комбінації з *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 у дітей з обтяженим алергологічним анамнезом і підвищеними рівнями IgE у цьому дослідженні не однорідні та потребують подальшого вивчення.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

REFERENCES/ЛІТЕРАТУРА

- Batault S, Whiting SJ, Peltier SL, Sadrin S, Gerber G, Maixent JM. (2013). Vitamin D metabolism, functions and needs: from science to health claims. *European journal of nutrition*. 52 (2): 429–441.
- Bikle DD. (2016). Extraskeletal actions of vitamin D. *Annals of the New York academy of sciences*. 1376 (1): 29.
- Bottcher MF, Abrahamsson TR, Fredriksson M, Jakobsson T, Bjorksten B. (2008). Low breast milk TGF- β 2 is induced by *Lactobacillus reuteri* supplementation and associates with reduced risk of sensitization during infancy. *Pediatric allergy and immunology*. 19 (6): 497–504.
- Cirillo AI, Boccia E, Cirillo Ar et al. (2005, abstract) Effectiveness of *L. reuteri* in patients with atopic dermatitis and cow milk intolerance. Preliminary study, Presented at the Italian Society for Clinical Allergy and Immunology (SIAIC) Congress, Rome, Italy, 4–7 May 2005. Abstract P-08.
- Grossman Z, Hadjipanayis A, Stiris T, Del Torso S, Mercier JC, Valiulis A, Shamir R. (2017). Vitamin D in European children—statement from the European Academy of Paediatrics (EAP). *European Journal of Pediatrics*. 176 (6): 829–831.
- Holick MF, Chen TC. (2008). Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *The American journal of clinical nutrition*. 87 (4): 1080S–1086S.
- Holick MF. (2007). Vitamin D deficiency. *New England Journal of Medicine*. 357 (3): 266–281.
- Jones ML, Martoni CJ, Prakash S. (2012). Cholesterol lowering and inhibition of sterol absorption by *Lactobacillus reuteri* NCIMB 30242: a randomized controlled trial. *European journal of clinical nutrition*. 66 (11): 1234–1241.
- Jones ML, Martoni CJ, Prakash S. (2013). Oral supplementation with probiotic *L. reuteri* NCIMB 30242 increases mean circulating 25-hydroxyvitamin D: a post hoc analysis of a randomized controlled trial. *The Journal of Clinical Endocrinology&Metabolism*. 98 (7): 2944–2951.
- Kvashnina LV. (2017). Vitamin D v rizni periody dytynstva: shcho my znaiemo, shcho neobkhdno pam'iataty i shcho zabuly – Zdorov'ia Ukrainy. 4 (43): 29–31. [Квашніна ЛВ. (2017). Вітамін Д у різні періоди дитинства: що ми знаємо, що необхідно пам'ятати і що забули? *Здоров'я України*. 4 (43): 29–31].
- Ly NP, Litonjua A, Gold DR, Celedon JC. (2011). Gut microbiota, probiotics, and vitamin D: interrelated exposures influencing allergy, asthma, and obesity? *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 127 (5): 1087–1094.
- Maidannyk VH. (2017). Vitamin D, imunna systema i profilaktyka hostrykh respiratornykh infektsii. *Mizhnarodnyi zhurnal pediatrii, akusherstva ta hinekologii*. 11 (4): 38–53. [Майданник ВГ. (2017). Вітамін D, імунна система і профілактика гострих респіраторних інфекцій. *Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології*. 11 (4): 38–53].
- Miyamoto KI, Kesterson RA, Yamamoto H, Taketani Y, Nishiwaki E, Tatsumi S, Pike JW. (1997). Structural organization of the human vitamin D receptor chromosomal gene and its promoter. *Molecular Endocrinology*. 11 (8): 1165–1179.
- Munns CF, Shaw N, Kiely M, Specker BL, Thacher TD, Ozono K, Ramos-Abad L. (2016). Global consensus recommendations on prevention and management of nutritional rickets. *Hormone research in paediatrics*. 85 (2): 83–106.
- Pludowski P, Holick MF, Grant WB, Konstantynowicz J, Mascarenhas MR, Haq A, Rudenka E. (2018). Vitamin D supplementation guidelines. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 175: 125–135.
- Povorozniuk VV, Pludovski P. (2014). Defitsyt ta nedostatnist vitaminu D: epidemiologia, diahnozyka, profilaktyka ta likuvannia. *Donetsk: Vydavets Zaslavskiy Olu*. [Поворозніук ВВ, Плудовські П. (2014). Дефіцит та недостатність вітаміну D: епідеміологія, діагностика, профілактика та лікування. *Донецьк: Видавець Заславський ОЮ*].
- Savino F, Ceratto S, Poggi E, Cartosio ME, Cordero di Montezemolo L, Giannattasio A. (2015). Preventive effects of oral probiotic on infantile colic: a prospective, randomised, blinded, controlled trial using *Lactobacillus reuteri* DSM 17938. *Beneficial microbes*. 6 (3): 245–251.
- Trochoutsou A, Kloukina V, Samitas K, Xanthou G. (2015). Vitamin-D in the immune system: genomic and non-genomic actions. *Mini reviews in medicinal chemistry*. 15 (11): 953–963.
- Wacker M, Holick MF. (2013). Vitamin D-effects on skeletal and extraskeletal health and the need for supplementation. *Nutrients*. 5 (1): 111–148.
- Wagner CL, Greer FR. (2008). Prevention of rickets and vitamin D deficiency in infants, children, and adolescents. *Pediatrics*. 122 (5): 1142–1152.

Відомості про авторів:

Маменко Марина Євгенівна — д.мед.н., проф. каф. педіатрії №2 НМАПО імені П.Л. Шупика. Адреса: м. Київ, вул. Богатирська, 30; тел. (044)-412-16-70. <http://orcid.org/0000-0001-7487-2993>.

Романько Марія Романівна — аспірант каф. педіатрії №2 НМАПО імені П.Л. Шупика. Адреса: м. Київ, вул. Богатирська, 30; тел.: (044) 201-32-15. <https://orcid.org/0000-0003-1603-9471>.

Стаття надійшла до редакції 15.06.2020 р.; прийнята до друку 07.09.2020 р.