

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Самарский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

ШАДРИНА

Инна Лерьевна

**ВЛИЯНИЕ ОБЕСПЕЧЕННОСТИ ЖЕЛЕЗОМ НА СОСТОЯНИЕ
ЗДОРОВЬЯ И МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА МАЛЬЧИКОВ-
ПОДРОСТКОВ**

3.1.21. Педиатрия

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,

доцент Е.А. Балашова

Самара – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Балашова Елена Анатольевна

Официальные оппоненты:

Захарова Ирина Николаевна, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой педиатрии имени академика Г.Н. Сперанского

Настаушева Татьяна Леонидовна, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой госпитальной педиатрии

Ведущая организация: федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва

Защита диссертации состоится «__» _____ 2023 года в 10⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета 21.2.061.04 при ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России по адресу: 443079, г. Самара, пр. К. Маркса д.165 Б.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (443001, г. Самара, ул. Арцыбушевская, д. 171) и на сайте (<http://www.samsmu.ru/scientists/science/referats>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Автореферат разослан «__» _____ 2023 года.

Учёный секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук, доцент

Жирнов Виталий Александрович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Дефицит железа (ДЖ) остается глобальной проблемой здравоохранения. В то же время, традиционными группами риска развития железодефицитной анемии (ЖДА) являются женщины и дети младшего возраста [World Health Organization, 2017]. Частота железодефицитных состояний (ЖДС) у подростков значимо ниже: от 1% до 8% [Васильева, Т.М. и соавт., 2019; Кувшинников В.А. и соавт., 2021] со значительным преобладанием у девушек [Захарова И.Н. и соавт., 2015; Самкина О.Н. и соавт., 2018]. Тем не менее, точных данных о распространенности ЖДА и особенно латентного дефицита железа (ЛДЖ) в России нет. В результате резолюция экспертного совета «Актуальные вопросы железодефицита в Российской Федерации» (июнь 2020 г.) отмечена необходимость проведения масштабных эпидемиологических исследований по частоте ЖДА в России и ее отдельных регионах со стратификацией по полу, возрасту, социально-экономическому положению и создание федерального регистра пациентов с ЖДС.

На сегодняшний день накоплено достаточно сведений, подтверждающих негативное влияние дефицита железа на физическое и психомоторное развитие [McCann S. et al., 2020], однако большинство исследований сосредоточены на ЖДА у детей младшего возраста и не рассматривают проблему ЛДЖ у подростков, особенно у мальчиков.

Проблемой амбулаторной терапии ЖДА остаются нежелательные эффекты пероральных препаратов железа, особенно их гастроинтестинальная токсичность [Girelli D. et al., 2018]. Одним из новых возможных рисков препаратов железа является нежелательное влияние на микробиоту [Georgieff МК. et al., 2019], однако результаты экспериментальных и клинических исследований по данному вопросу крайне противоречивы.

Таким образом, необходимо проведение исследований влияния железодефицитных состояний, в первую очередь латентного дефицита железа, и их последующей коррекции на различные аспекты состояния мальчиков подросткового возраста, в том числе на состав кишечной микробиоты.

Степень разработанности темы исследования

Проблема негативных эффектов дефицита железа хорошо изучена во время беременности и в раннем детском возрасте [Таюпова, И.М., 2015; Barks АК. et al., 2021; Ferreira A. et al., 2019; Moeller SL. et al., 2019]. Однако степень влияния дефицита железа, развивающегося в подростковом возрасте, на функциональные и когнитивные возможности организма до сих пор не

известна, также, как и потенциальная польза от его коррекции или дополнительной саплементации железом. Особенно мало изучены клинические эффекты устранения ЛДЖ. Существуют немногочисленные исследования, изучающие эффекты дефицита железа и его коррекции на когнитивные возможности подростков и молодых взрослых [Scott SP. et al., 2018; Wenger MJ. et al., 2019]. Тем не менее, мета-анализ не обнаружил ассоциации не только саплементации железом, но и запасов железа, латентного дефицита железа и ЖДА с когнитивными функциями у подростков [Samson KLI. et al., 2022].

Существует ограниченное число исследований влияния дефицита железа на состав кишечной микробиоты, большинство из которых проведены на животных моделях. Клинические исследования малочисленные и часто показывают противоречивые результаты [McClorry S. et al., 2018; Muleviciene A. et al., 2018]. Исследования отечественных авторов вопроса связи микробиоты и железа единичные [Каримова М.Н. и др., 2016; Квашнина Л.В. и др., 2016].

Цель исследования

Оптимизация тактики амбулаторного ведения и профилактики железодефицитных состояний у мальчиков-подростков с учетом возможного влияния саплементации на функциональные возможности организма, состояние памяти и внимания, а также состав просветной микробиоты кишечника.

Задачи исследования

1. Изучить распространенность латентного дефицита железа (ЛДЖ) и ЖДА у мальчиков-подростков
2. Определить влияние ЛДЖ, развивающегося в подростковом возрасте, на физическое и половое развитие мальчиков
3. Выявить влияние ЛДЖ, развивающегося в подростковом возрасте, на функциональные резервы и память и внимание детей
4. Оценить эффективность приема препаратов железа при ЛДЖ, а также влияние саплементации железом в различной дозировке на функциональные возможности организма, а также память и внимание с учетом первоначальных запасов железа
5. Установить особенности микробиоты кишечника у здоровых подростков в зависимости от состояния запасов железа и показателей общего анализа крови

6. Проанализировать влияние саплементации препаратом железа в различной дозировке на состав микробиоты кишечника

Научная новизна результатов исследования

Установлена высокая частота (19,2%) ЖДС у мальчиков-подростков I-II группы здоровья. Проведена оценка физического развития методом антропометрии и биоимпедансометрии в данной группе в зависимости от обеспеченности железом, показано негативное влияние ЖДС на половое развитие мальчиков.

Впервые доказаны положительные эффекты назначения железа в дозе физиологической потребности здоровым мальчикам-подросткам без железодефицитных состояний на функциональные возможности организма.

Впервые в РФ в условиях, стандартизированных по особенностям питания, проживания, физических нагрузок и гигиенических условий, определено влияние ЛДЖ на состав микробиоты кишечника у мальчиков подросткового возраста в виде достоверных различий в частоте встречаемости штаммов представителей родов *Bacteroides*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* и *Streptococcus*.

Впервые проведен сравнительный анализ состава микробиоты на фоне приема пероральных препаратов железа и доказана зависимость выявляемых изменений в зависимости от дозировки. Впервые показан положительный эффект саплементации железом в дозе физиологической потребности на микробиоту кишечника в виде общего повышения видового разнообразия, увеличения количества выделенных штаммов и расширение разнообразия среди представителей родов *Bacteroides*, *Parabacteroides* и *Lactobacillus*, а также увеличения частоты выделения штаммов *Bifidobacterium adolescentis*.

Доказано, что 30-дневный курс применения препаратов железа в половине лечебной дозы не повышает видовое разнообразие микробиоты и приводит к снижению количества представителей Actinobacteria преимущественно за счет *Bifidobacterium spp.* и Firmicutes за счет *Streptococcus spp.*, а также к увеличению количества *Lactobacillus spp.* и расширению их видового спектра.

На основании полученных результатов оформлена заявка на патент РФ на способ коррекции состава микробиоты кишечника с помощью железа (III) гидроксида полимальтозата (рег. №2022126827 от 14.10.2022).

Теоретическая и практическая значимость работы

Установлена частота железодефицитных состояний у мальчиков подросткового возраста, что может явиться основой для разработки программ групповой профилактики в амбулаторном звене.

Выявленная достоверная корреляция жировой массы и висцерального жира с уровнем сывороточного ферритина является обоснованием использования при диагностике ЖДС у детей с ожирением референсных значений сывороточного ферритина, применяемых при воспалении, или определения растворимых трансферриновых рецепторов.

Доказанный негативный эффект ЛДЖ на темпы полового развития мальчиков определяет необходимость ранней диагностики и своевременной коррекции дефицита железа в данной группе.

Выявленный в результате проведения исследования положительный эффект саплементации железом в дозе физиологической потребности на функциональные и когнитивные возможности, а также состав кишечной микробиоты здоровых подростков обосновывает проведение курсовой саплементации в данной группе в периоды повышенных нагрузок и функциональной напряженности.

Установление влияния железодефицитных состояний и последующей саплементации на состав просветной микробиоты кишечника расширяет теоретические знания о механизмах регуляции микробиоты, а разработанный на их основании способ расширяет лечебные возможности коррекции нежелательных изменений микробиоты.

Методология и методы исследования

Методология диссертационного исследования построена на изучении и обобщении данных литературы по проблеме дефицита железа у детей; проведении экспериментального клинического нерандомизированного исследования состояния здоровья детей, страдающих ЖДС. Диссертационная работа проводилась поэтапно по плану, соответствующему ее цели и задачам. Объектами исследования стали дети подросткового возраста – здоровые и с железодефицитными состояниями. В ходе выполнения работы использовались современные клиничко-статистические, лабораторные и инструментальные методы исследования.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. Железодефицитные состояния, преимущественно в латентной форме, встречаются с достаточно высокой частотой у мальчиков-подростков I-II группы здоровья
2. ЛДЖ, развивающийся в подростковом возрасте, коррелирует с замедлением полового развития, но практически не влияет на физическое развитие.
3. Для подростков, страдающих ЛДЖ, характерно снижение функциональных возможностей сердечно-сосудистой системы и тенденция к снижению памяти и внимания.
4. 30-дневный курс терапии препаратами железа оказывает умеренное влияние на повышение функциональных резервов у подростков с ЛДЖ, тогда как саплементация железом в дозе физиологической потребности детям с адекватными его запасами дает значимое улучшение показателей мышечной силы, физической подготовленности, памяти и внимания.
5. Железодефицитные состояния способствуют модификации микробиоты кишечника у подростков на видовом уровне.
6. Саплементация железом подросткам в дозе, соответствующей изначальным запасам железа, приводит к расширению видового состава и общего числа выделенных штаммов и эрадикации нежелательных микроорганизмов, причем изменения более выражены у детей без железодефицитных состояний.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационное исследование соответствует паспорту специальности 3.1.21. Педиатрия. Медицинские науки – и областям исследования п. №4 «обмен веществ у детей, микронутриентная недостаточность», п. №6 «внутренние болезни детей».

Степень достоверности результатов

Использование достаточного объема клинического материала, наличие репрезентативной выборки обследованных определяют достоверность полученных в ходе научного исследования результатов. Дизайн исследования соответствует целям и задачам. Выбранные методы статистической обработки отвечают современным требованиям доказательной медицины. Комиссия по проверке первичной документации констатировала, что все материалы

диссертации достоверны и получены лично автором, выполнявшим работу на всех этапах исследования.

Апробация результатов исследования

Апробация диссертации состоялась на расширенном заседании кафедр педиатрии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» (СамГМУ) Минздрава России 18.10.2022 г., протокол №3.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на межрегиональном научном форуме по вопросам педиатрии «Детский Врач. Инновации. Наука. Практика» (Самара, 2021), Поволжском региональный научный форум по вопросам охраны женского, мужского и детского здоровья «Мы и наши дети» (Самара, 2021), региональной научно-образовательной конференции «Междисциплинарные подходы к диагностике и лечению в педиатрии» (Тольятти, 2021), общероссийской конференции «Flores vitae. Контраверсии в неонатальной медицине и педиатрии» (Сочи, 2022), XIX Конгрессе педиатров России с международным участием (Москва, 2022).

Внедрение результатов исследования в практику

Использование способа коррекции состава микробиоты кишечника у детей подросткового возраста с ЖДС жизни внедрено в практическую деятельность ГБУЗ СО «Самарская городская клиническая поликлиника №15» (акт внедрения от 12.12.2022), ГБУЗ СО «Самарская городская поликлиника №3» (акт внедрения от 14.12.2022), ГБУЗ СО «Самарская городская больница №7» (акт внедрения от 16.01.2023) а также ФГКОУ «Самарский кадетский корпус Министерства Внутренних дел Российской Федерации» (акт внедрения от 16.01.2023).

Основные научные положения используются в научной и педагогической работе кафедры госпитальной педиатрии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (акт внедрения от 17.01.2023).

Личный вклад автора

Подбор и клинико-anamnestическое обследование детей, разработка протоколов исследования, анализ литературы, сбор материала для проведения лабораторных исследований, динамический контроль за лечением пациентов с ЖДС, интерпретация клинико-лабораторных результатов, статистический анализ, подготовка основных публикаций по теме исследования, оформление работы выполнены лично автором диссертационной работы.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 9 научных работ, из них 7 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, подана заявка на патент РФ (рег. №2022126827 от 14.10.2022).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 146 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, библиографического указателя, включающего 84 работы отечественных и 160 работ иностранных авторов. Диссертация иллюстрирована 33 таблицами и 18 рисунками.

Содержание работы

Материалы и методы. Проспективное исследование выполнено на базе ФГКОУ «Самарский кадетский корпус Министерства Внутренних дел Российской Федерации», что позволило минимизировать влияние таких переменных факторов как рацион питания, гигиенические условия, уровень физической активности, хронические заболевания, прием медикаментов и биологически активных добавок.

Критерии включения в исследование: возраст на момент проведения исследования от 12 до 15 полных лет, согласие родителей или законных представителей на участие в исследовании.

Критерии исключения: отказ от участия в исследовании, острые инфекционные заболевания, сопровождающиеся гипертермией, в течение всего периода исследования, диарея в течение 7 дней до лабораторного исследования, невозможность проведения общего анализа крови и/или биохимического анализа крови (образование сгустка, гемолиз, недостаточный объем материала для исследования), невозможность проведения исследования микробиоты (отсутствие стула в течение 3 дней), возникновение любых побочных эффектов саплементации железом, за исключением изменения цвета кала.

Состояние запасов железа и эритропоэза у подростков оценивалось при включении в исследование путем подсчета показателей общего анализа крови на автоматическом гематологическом анализаторе Sysmex XT-2000i (Sysmex, Япония) методом флуоресцентной проточной цитометрии и определения уровня сывороточного ферритина (СФ) на автоматическом биохимическом анализаторе Integra 400 plus (Roche, Швейцария) иммунотурбидиметрическим методом. Для исключения ложноотрицательных результатов под влиянием

воспаления определен уровень С-реактивного белка количественным методом. Детям с выявленными ЖДС проведено контрольное лабораторное исследование после 1 месяца перорального приема препаратов железа.

В соответствии с рекомендациями ВОЗ, анемией считалось снижение уровня гемоглобина ниже 120 г/л, дефицит железа диагностировался при снижении уровня ферритина менее 15 мкг/мл при нормальном уровне СРБ, определенном количественным методом. ЖДА устанавливалась при сочетании анемии и ДЖ, ЛДЖ – при наличии ДЖ и отсутствии анемии. В соответствии с этими критериями по результатам анализов дети разделены на три ветви: здоровые, с ЛДЖ и с ЖДА.

Все дети получали пероральные препараты железа в виде сиропа или жевательных таблеток железа (III) гидроксид полимальтозата 1 раз в день во время завтрака в течение 30 дней в дозировке 5 мг/кг/сутки при установленной ЖДА, 2,5 мг/кг/сутки при ЛДЖ и 15 мг/сутки без ЖДС.

Всем детям проведено полное клиническое обследование, с привлечением узких специалистов, термометрия, антропометрия в рамках профилактического осмотра (приказ Минздрава РФ от 10.08.2017 №514н). Оценка показателей полового развития по методике Таннер проводилась детским эндокринологом.

При включении в исследование и через 30 дней саплементации железом оценено функциональное состояние организма (мышечная сила, ЧСС и АД в покое, проба Мартине-Кушелевского, проба Генчи, координаторные пробы), физическая подготовленность (подтягивание из виса на высокой перекладине, поднимание туловища из положения лежа на спине, прыжок в длину с места толчком двумя ногами, челночный бег 3x10 м, бег на 60 м и бег на 2000 м), память и внимание (проба на запоминание 10 слов А.Р. Лурия, красно-черные таблицы Горбова, корректурная проба) и состав просветной микробиоты толстой кишки. Идентификацию выделенных культур проводили с помощью MALDI-ToF – матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации. В качестве матрицы использована α -циано-4-гидроксикоричная кислота (HCCA), (Bruker Daltonik GmbH, Германия).

Объект исследования. Набор подростков в исследование проведен двукратно: в период с 18.03.2021 по 30.04.2021 и с 08.11.2022 по 16.12.2022 методом сплошной выборки (рис. 1). При первом наборе в исследование включено 136 подростков, исключено в связи с возникновением острых инфекционных заболеваний 14 человек, всего – 122 человека, из них ЖДА – 3, ЛДЖ – 20, здоровых – 99. При втором наборе включен 151 подросток, исключено в связи с возникновением острых инфекционных заболеваний 8 человек, всего – 143 человека, из них ЖДА – 3, ЛДЖ – 26, здоровых – 114.

Группа ЖДА в связи с малым размером исключена из последующего анализа. В связи с достаточным размером группы здоровых при первом наборе (99 человек), дополнительно подростков без ЖДС из второго набора в исследование не включали. Таким образом, в основную группу вошло 46 детей с ЛДЖ, в контрольную – 99 здоровых подростков.

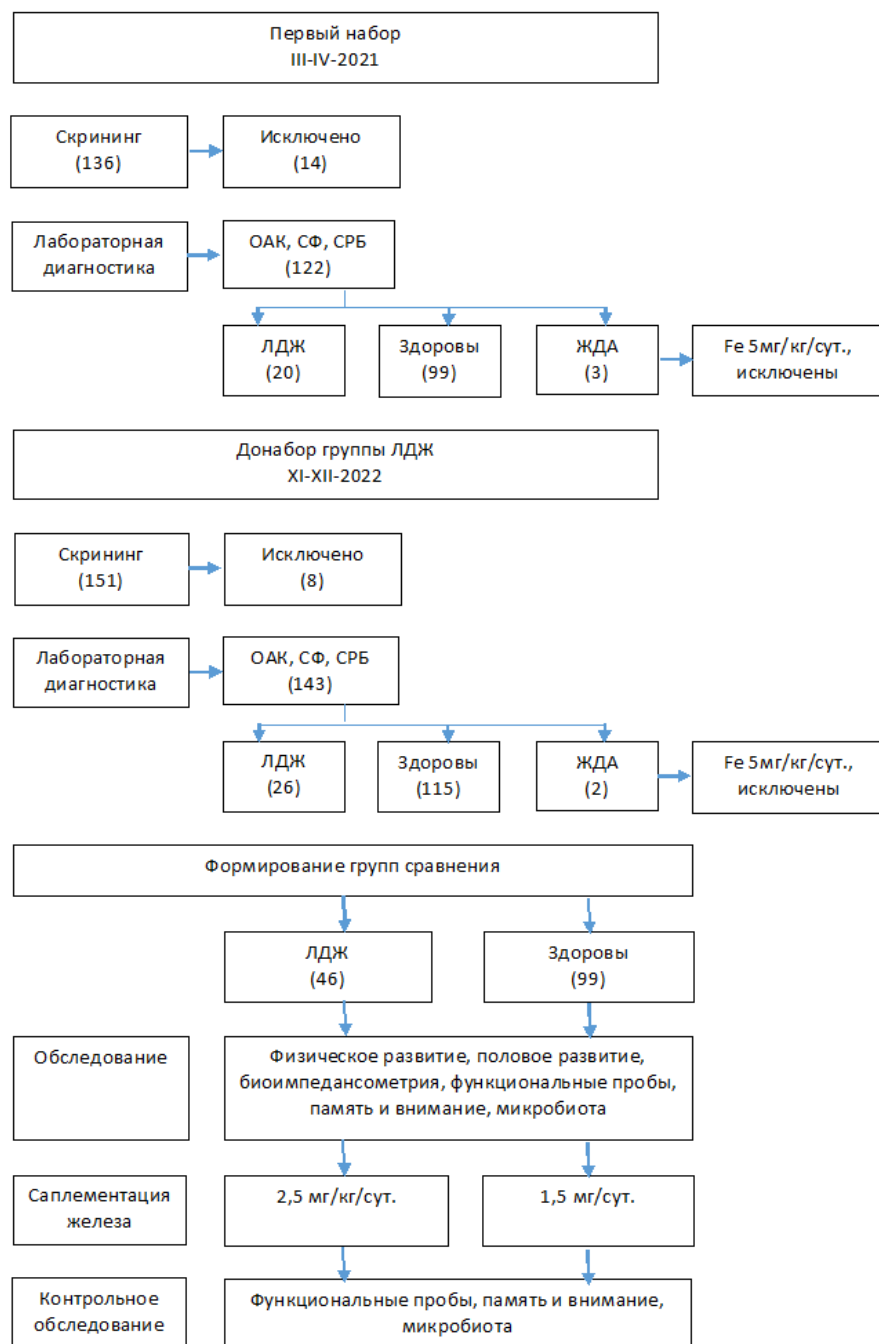


Рисунок 1 Схема исследования

Материалы исследования были подвергнуты статистической обработке с использованием методов параметрического и непараметрического анализа. Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных

таблицах Microsoft Office Excel 2016. Статистический анализ проводился с использованием программы STATISTICA 13.3 (разработчик - StatSoft.Inc)

СОБСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Показатели физического, полового развития и функционального состояния до саплементации железом

Сплошное обследование 265 мальчиков-подростков I-II группы здоровья выявило, что распространенность ЖДА невысока и составила 1,9% (5), однако еще у 46 человек (17,4%) обнаружен ЛДЖ. Таким образом, общая распространенность дефицита железа – 19,2% (51).

Основные антропометрические показатели в группах сравнения не отличались и ни для одного из них не обнаружено корреляции с уровнем СФ. ИМТ у большинства обследованных детей был в пределах нормы и не отличался в группах сравнения ($p=0,610$). Избыточная масса тела ($ИМТ > +1SD$), обнаружена у 28,3% (13) и 32,3% (32) детей групп сравнения соответственно, у 1 ребенка основной группы (2,2%) и 4 детей контрольной группы (4,0%) выявлено ожирение ($ИМТ > +2SD$). При использовании метода биоимпедансометрии, уровень СФ достоверно выше у детей с избыточной массой тела (35,15 (20,8; 48,6) против 18,8 (16,4; 20,0), $p < 0,001$) и, особенно, с ожирением (40,8 (19,4; 56,3) против 18,8 (16,4; 20,0), $p = 0,012$) и коррелирует с общей жировой массой ($r_s = 0,210$, $p = 0,013$), ее процентом ($r_s = 0,239$, $p = 0,005$) и висцеральным жиром ($r_s = 0,208$, $p = 0,014$).

Половое развитие всех мальчиков, оцененное по J.M. Tanner, соответствовало возрастной норме, но при сравнении групп выявлены более низкие темпы полового развития в основной группе. Так, лобковое оволосение в основной группе оценено на 2,5 (2; 3), тогда как в контрольной группе – на 3 (3; 4) балла ($p=0,009$), а развитие гениталий на 3 (2; 4) и 4 (3; 5) баллов соответственно ($p=0,022$). Выявлена корреляция между уровнем полового развития и уровнем СФ у мальчиков-подростков: для лобкового оволосения $r_s = 0,186$, $p = 0,028$, для развития гениталий – $r_s = 0,224$, $p = 0,008$.

Оценка функционального состояния организма показала наибольшее негативное влияние ЛДЖ на адаптивные возможности дыхательной системы: среднее время задержки дыхания составило в группе ЛДЖ составило 17” (11; 22) против 20” (16; 25) у здоровых ($p=0,016$). Показатели АД и ЧСС в группах сравнения в покое не отличалась, после нагрузки в основной группе значимо длиннее было время восстановления ЧСС: 120,0 (120,0; 180,0) против 120,0 (60,0; 120,0) у здоровых ($p=0,001$), что особо важно с учетом нормального уровня гемоглобина у детей с ЛДЖ, таким образом, негативное влияние оказывает не анемия, а именно ДЖ.

Оценка мышечной силы кистевым динамометром не выявила различий между сравниваемыми группами: 32,8 (7,8) даН против 31,5 (7,9) даН ($p=0,383$). Средние значения показателей физической подготовленности в группах до саплементации также не отличались.

При проведении координаторной пробы оказалось, что время выполнения пробы каждой степени сложности не отличалось, хотя в основной группе отмечалась тенденция к сокращению времени выполнения, что, вероятно, отражает утомляемость (рис. 2).

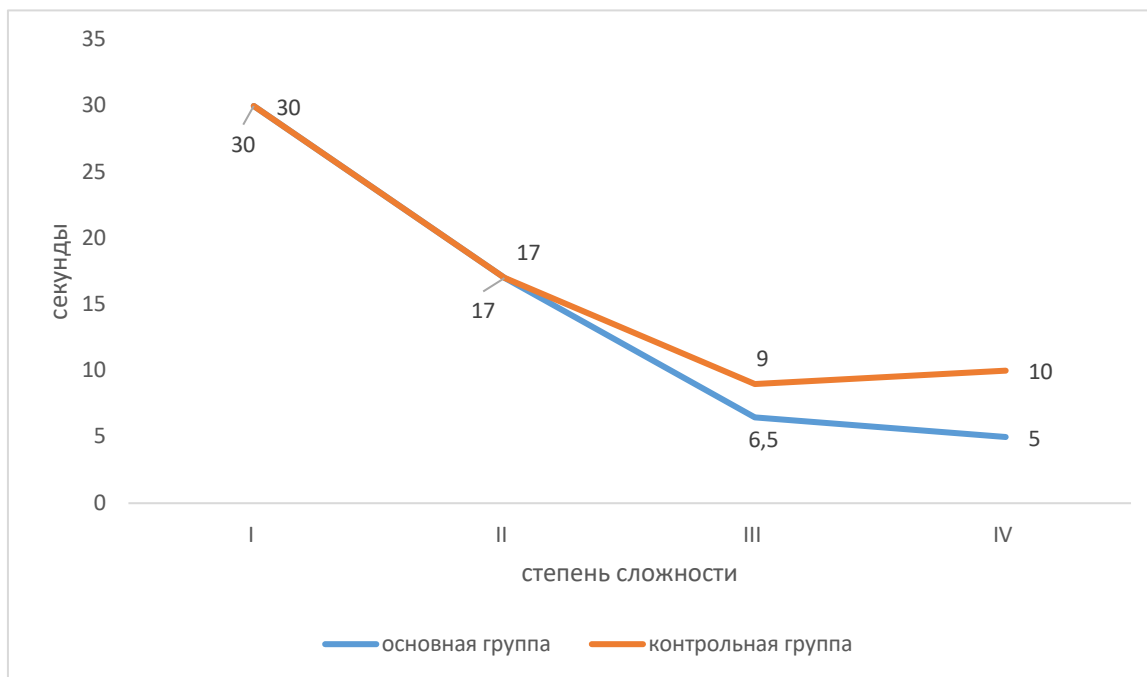


Рисунок 2 Результаты координаторной пробы детей групп сравнения

Изучение результатов проб на память и внимание показало тенденцию к более низким показателям у детей с ЛДЖ в сравнении со здоровыми, однако значимые отличия выявлены только по нескольким показателям. Проба с запоминанием 10 слов не выявила различий между группами: запомнили все слова 39,1% (18) детей основной группы и 40,4% (40) детей контрольной группы ($p=0,885$). Среднее число запомненных слов также не отличалось: 6 (5; 8) в основной и 6 (5; 7) в контрольной группе ($p=0,434$).

Исследование переключения внимания показало тенденцию к более низким показателям в группе дефицита железа: подростки с ЛДЖ затрачивали достоверно большее время на выполнение первых двух заданий, однако к третьей пробе, вероятно происходило вработывание и различия между группами нивелировались (таб. 1).

Таблица 1 Исследование внимания детей групп сравнения с использованием красно-черных таблиц Горбова

Показатель	Основная группа, n=46	Контрольная группа, n=99	p
------------	-----------------------	--------------------------	---

Проба 1	Время, сек.	133 (100; 240)	110 (93; 146)	0,019
	Ошибки, шт.	0 (0; 25)	0 (0; 1)	0,101
Проба 2	Время, сек.	145 (100; 206)	115 (95; 137)	0,029
	Ошибки, шт.	0 (0; 24)	0 (0; 0)	0,010
Среднее время, сек.		133 (97; 192,5)	111 (94; 142,5)	0,062
Среднее число ошибок, шт.		0 (0; 24,5)	0 (0; 1)	0,185
Проба 3	Время, сек.	481 (453; 596)	509 (401; 675)	0,966
	Ошибки, шт.	20,0 (3; 38)	27 (5; 39,5)	0,328
Переключение, сек.		216 (55; 310)	260 (129; 455)	0,029

распределение, отличное от нормального, Me (Q₁; Q₃). U критерий Манна-Уитни

По результатам корректурной пробы Бурдона обнаружено, что степень концентрации и устойчивость внимания у детей с дефицитом железа не отличается от здоровых, однако при балльной оценке показателей дети с ЛДЖ получили более низкие значения, причем в отношении устойчивости внимания различия между группами были достоверными (таб. 2).

Таблица 2 Результаты корректурной пробы детей групп сравнения (балльная оценка)

Показатель, баллы	Основная группа, n=46	Контрольная группа, n=99	p
Точность	9 (2; 13)	12 (7,5; 19)	0,037
Продуктивность	13 (11; 16)	15 (11; 19,5)	0,060
Устойчивость	23 (15; 30)	28 (21; 36)	0,010

распределение, отличное от нормального, Me (Q₁; Q₃). U критерий Манна-Уитни

Показатели функционального состояния после саплементации железом

По результатам контрольного обследования после 30-дневного курса приема препарата железа в половине лечебной дозировки согласно инструкции, нормализация уровня СФ (>15 мкг/л) произошла только у 67,4% (31) детей, а уровень сывороточного ферритина остался достоверно более низким, чем у детей без дефицита железа при первоначальном обследовании (18,0 (13,4; 21,3) мкг/л против 33,2 (24,2; 48,1) мкг/л, $p < 0,001$).

На фоне саплементации железом не произошло достоверных изменений результатов пробы Генчи как у здоровых детей ($p = 0,881$), так и у детей с ЛДЖ ($p = 0,615$). Тем не менее, между группами сохранились достоверные различия ($p = 0,011$) (рис. 3).

Результаты пробы Генчи детей групп сравнения в динамике

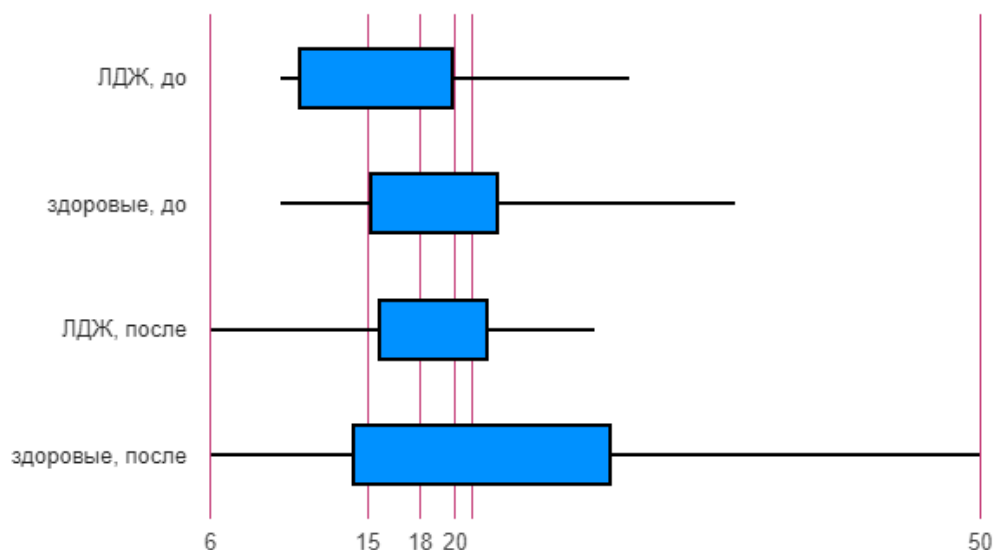


Рисунок 3 Результаты пробы Генчи до и после лечения в группах сравнения

Частота сердечных сокращений в покое достоверно уменьшилась в обеих группах, при этом различий между группами после лечения не обнаружено ($p=0,208$).

Оценка результатов пробы Мартине-Кушелевского показала отсутствие различий во времени восстановления артериального давления, тогда как время восстановления ЧСС достоверно уменьшилось в основной группе (120'' (120; 180) против 120'' (120; 120), $p < 0,001$) и не изменилось в контрольной группе (120'' (60; 120) против 120'' (60; 120), $p=0,704$).

Мышечная сила достоверно повысилась в контрольной группе ($p=0,001$) и существенно не изменилась в основной группе ($p=0,091$). Изучение динамики показателей физической подготовленности в основной группе показало достоверные различия ($p=0,002$) только для одного показателя – бега на 60 метров. В контрольной группе обнаружена положительная динамика в отношении трех показателей – подтягиваний из виса на высокой перекладине ($p < 0,001$), прыжка в длину ($p=0,003$) и бега на 60 метров (0,001). При этом различий между основной и контрольной группой после саплементации не обнаружено: для бега на 60 метров 9,0 (8,5; 9,4) сек. против 8,8 (8,4; 9,3) сек. ($p=0,464$), для прыжка в длину 192,0 (180,0; 210,0) см. против 200,0 (185,0; 215,0) см. ($p=0,158$), для подтягиваний 5,0 (1,0; 8,0) против 5,0 (1,5; 10,0) раз ($p=0,650$).

При проведении координаторной пробы оказалось, что в контрольной группе время выполнения достоверно не изменилось ($p > 0,05$). В основной группе отмечается тенденция к улучшению показателей, однако для всех степеней сложности кроме II ($p < 0,001$) различия были недостоверными ($p > 0,05$).

По результатам пробы с запоминанием 10 слов достоверных различий до и после проведения саплементации практически не обнаружено. Тем не менее, в обеих группах увеличилось число правильно воспроизведенных слов в первую попытку: в основной группе 7 (6; 7) против 6 (5; 8) слов, $p = 0,058$, а в контрольной группе – 7(5;8) против 6 (5; 7) слов, $p = 0,003$. В обеих группах произошло снижение доли детей с патологической кривой запоминания ($p > 0,05$).

Исследование переключения внимания показало достоверное улучшение практически по всем показателям в контрольной группе и улучшение по большинству показателей в основной группе (таб. 3). При сравнении результатов групп после лечения ни по одному из параметров значимых отличий не обнаружено ($p > 0,05$).

Таблица 3 Динамика результатов исследования внимания детей групп сравнения с использованием красно-черных таблиц Горбова до и после лечения

Показатель		Основная группа, n=46		p	Контрольная группа, n=99		p
		до лечения	после лечения		до лечения	после лечения	
Пр. 1	Время, сек.	133 (100; 240)	119 (92; 131)	0,016	110 (93; 146)	108 (90; 129)	0,002
	Ошибки, шт.	0 (0; 25)	0 (0; 0)	<0,001	0 (0; 1)	0 (0; 0)	<0,001
Пр. 2	Время, сек.	145 (100; 206)	110,5 (103; 125)	0,088	115 (95; 137)	98 (84; 120)	<0,001
	Ошибки, шт.	0 (0; 24)	0 (0; 0)	0,001	0 (0; 0)	0 (0; 0)	<0,001
Среднее время, сек.		140 (101,5; 192,5)	118 (107; 135)	0,017	111 (94; 142,5)	106,5 (87; 125,5)	<0,001
Среднее число ошибок, шт.		0 (0; 24,5)	0 (0; 0,5)	<0,001	0 (0; 1)	0 (0; 0)	<0,001
Пр. 3	Время, сек.	481 (453; 596)	490 (415; 532)	0,065	509 (401; 675)	485 (363; 600)	0,055
	Ошибки, шт.	20,0 (3; 38)	15 (6; 29)	0,414	27 (5; 39,5)	19 (3; 31)	0,013
Переключение, сек.		216 (55; 310)	233 (117; 290)	0,623	260 (129; 455)	274 (168; 379,5)	0,867

распределение, отличное от нормального, Me (Q1; Q3). W критерий Уилкоксона

По результатам корректурной пробы Бурдона обнаружено улучшение показателей продуктивности у детей основной группы и улучшение

показателей продуктивности и мощности у детей контрольной группы. Время выполнения достоверно сократилось в обеих группах (таб. 4).

Таблица 4 Динамика результатов корректурной пробы детей групп сравнения до и после лечения (абсолютные значения)

Показатель	Основная группа, n=46		p	Контрольная группа, n=99		p
	до лечения	после лечения		до лечения	после лечения	
Общее время выполнения, сек.	206,5 (180; 237)	180 (149; 233)	0,002	195 (159,5; 235,5)	173 (150,5; 199,5)	<0,001
Точность, %	90,0 (82,0; 95,0)	91,0 (86,0; 96,0)	0,714	94,0 (88,0; 97,0)	94,0 (89; 98)	0,966
Мощность	0,30 (0,23; 0,36)	0,24 (0,18; 0,35)	0,129	0,34 (0,23; 0,41)	0,28 (0,21; 0,39)	0,022
Продуктивность, знаки	3138,0 (2734,2; 3600,0)	3600,0 (2781,1; 4349,0)	0,001	3323,1 (2728,5; 4018,6)	3745,7 (3248,6; 4305,7)	<0,001

распределение, отличное от нормального, Me (Q1; Q3). W критерий Уилкоксона

Интегральная оценка, также, как и до лечения, показала у большинства детей средний уровень устойчивости (рис. 4), однако в обеих группах произошло снижение доли детей с низкими показателями, причем в контрольной группе – достоверное (значение критерия χ^2 для произвольных таблиц $p=0,047$).

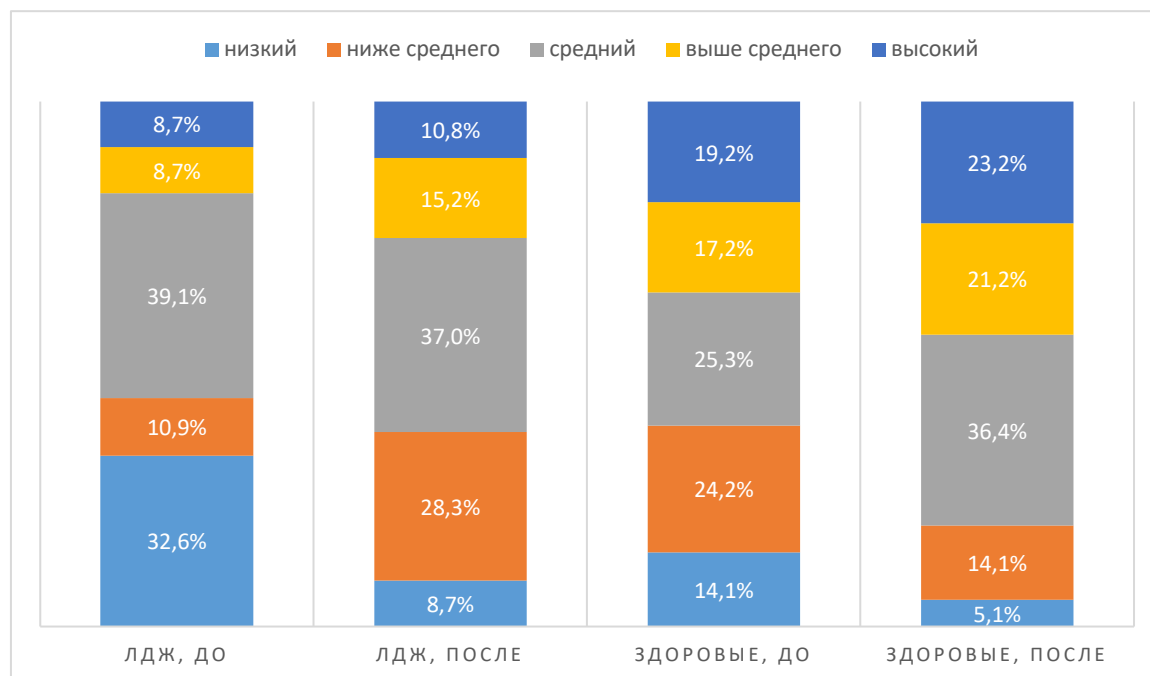


Рисунок 4 Динамика итоговой оценки корректурной пробы детей групп сравнения до и после лечения

Таким образом, саплементация железом оказала умеренное положительное влияние на память и внимание мальчиков-подростков с изначально нормальным уровнем сывороточного ферритина. У мальчиков,

страдающих дефицитом железа, положительный эффект был незначительным, что может говорить о недостаточной продолжительности терапии.

Влияние ЛДЖ и саплементации железом в различной дозировке на видовой состав культуroma кишечного содержимого

У пациентов с разными исходными показателями уровня железа имеются достоверные статистические различия в отношении ряда бактериальных представителей. Так, в частности, у пациентов с ЛДЖ отмечалась достоверно более высокая частота встречаемости штаммов *Bacteroides fordii*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus salivarius*, а также *Streptococcus anginosus*. С одной стороны, увеличение числа отдельных видов *Lactobacillus* может отражать известную независимость данного вида от концентрации железа в окружающей среде. С другой стороны, с учетом непосредственного влияния *Lactobacillus* на всасывание железа, увеличение числа этих видов может быть адаптивным в условиях низкого содержания железа в кишечном содержимом.

Индекс видового разнообразия Шеннона в основной группе был 3,06. В контрольной группе отмечается большее видовое разнообразие: индекс Шеннона – 3,17, тем не менее, сравнение индексов видового разнообразия с использованием t-теста Хатчесона показало отсутствие достоверных различий между группами до лечения ($p=0,218$).

Таблица 5 Сравнительная характеристика микробиома кишечного содержимого у пациентов с разными исходными показателями железа (представлены только штаммы, для которых обнаружены достоверные различия)

Вид микроорганизма	Основная группа, n=46	Контрольная группа, n=99	p
<i>Bacteroides</i>			
<i>Bacteroides spp.</i>	41	81	
<i>Bacteroides fordii</i>	4	0	0,009
<i>Firmicutes</i>			
<i>Enterococcus spp.</i>	102	176	
<i>Enterococcus faecalis</i>	21	20	0,003
<i>Lactobacillus spp.</i>	37	47	
<i>Lactobacillus amylovorus</i>	3	0	0,031
<i>Lactobacillus brevis</i>	3	0	0,031
<i>Lactobacillus gasseri</i>	8	1	<0,001
<i>Lactobacillus salivarius</i>	5	1	0,012
<i>Streptococcus spp.</i>	35	52	
<i>Streptococcus anginosus</i>	5	0	0,003

В результате проведенной саплементации железом подросткам с изначально нормальными запасами железа расширился видовой состав

выделенной флоры и общее количество выделенных штаммов, индекс видового разнообразия Шеннона увеличился с 3,17 до 3,60 ($p < 0,001$).

У обследованных пациентов были выявлены динамические изменения в составе культурома кишечного содержимого. На фоне проведенной терапии препаратами железа отмечается увеличение количества выделенных штаммов *Bacteroidetes* в 1,66 раза, *Actinobacteria* в 1,23 раза, *Firmicutes* в 1,26 раза и *Proteobacteria* в 1,2 раза.

В видовой структуре бактерий – представителей *Bacteroidetes* отмечается увеличение количества выделенных штаммов и расширение разнообразия среди представителей родов *Bacteroides* и *Parabacteroides*.

Среди представителей типа *Actinobacteria* не выявлено значимых динамических изменений, однако обращает на себя внимание достоверное увеличение частоты выделения штаммов *Bifidobacterium adolescentis*, а также тенденция к снижению распространенности *Bifidobacterium longum*.

Выявлены существенные изменения в динамике штаммов *Firmicutes* до и после проведенной терапии. Отмечается расширение видового состава и общего числа выделенных штаммов *Lactobacillus* spp., причем распространенность штаммов *Lactobacillus delbruekii* и *Lactobacillus gasseri* увеличилась с достаточной степенью достоверности ($p < 0,05$). У данных пациентов также отмечено статистически значимое снижение количества штаммов *Streptococcus gallolyticus* – в 3,5 раза в сравнении с исходными показателями с 28 штаммов до 8 ($p < 0,001$). Кроме этого, установлено значительное увеличение количества штаммов *Enterococcus faecalis*: 20 штаммов до саплементации и 42 – после ($p < 0,001$).

На фоне терапии препаратами железа выявлено расширение видового разнообразия за счет появления новых таксонов, не представленных в составе культурома при первичном обследовании, в частности родов *Clostridium*, *Pediococcus*, *Paenibacillus*, *Mitsiokella*, *Lysinibacillus*.

В структуре *Proteobacteria* также отмечается расширение видового спектра представителей порядка *Enterobacterales* с 106 до 124.

У подростков с ЛДЖ в отличие от здоровых не произошло повышение индекса видового разнообразия Шеннона: 3,07 против 3,06 до саплементации, $p = 0,918$, а различия выраженности видового разнообразия со здоровыми детьми усилились за счет выраженных изменений в контрольной группе и приобрели достаточный уровень значимости ($p < 0,001$).

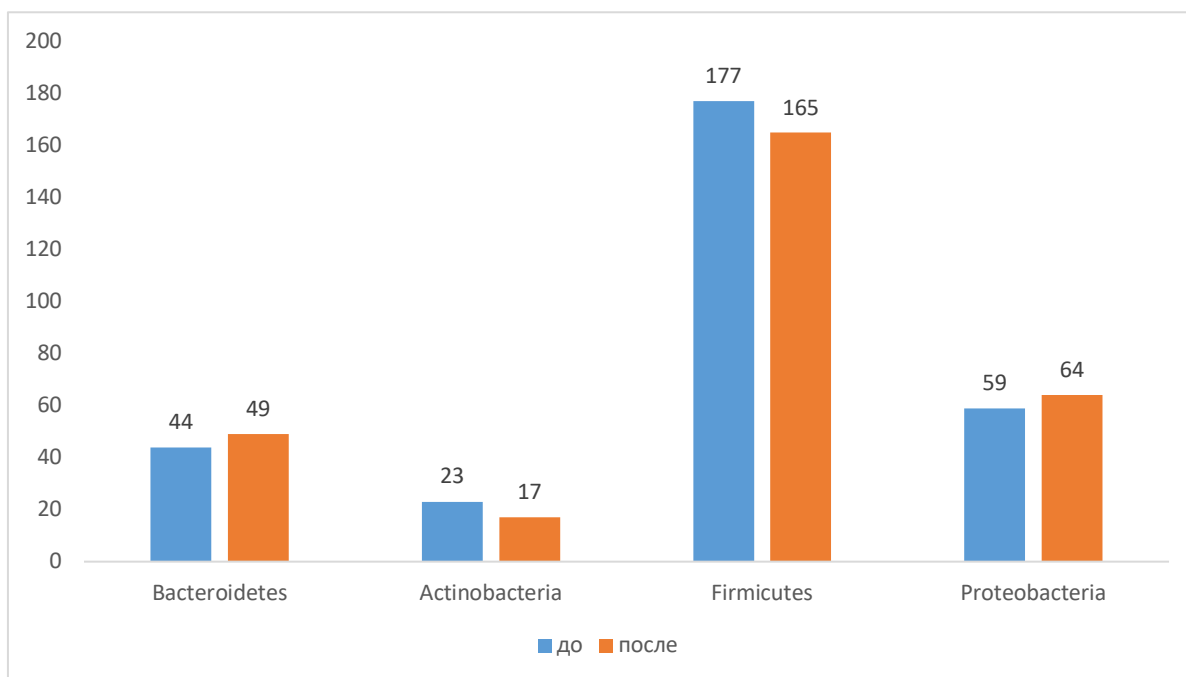


Рисунок 5 Спектр типов бактерий, выделенных у пациентов, получавших половину от терапевтической дозы железа, до и после лечения (в штаммах)

При анализе данных структуры культурома кишечного содержимого пациентов, получавших профилактическую дозу препарата железа, обращает на себя внимание снижение количества представителей Actinobacteria, преимущественно за счет снижения количества бифидобактерий, что, как отмечено выше, по данным литературы является характерным для саплементации железом, а также снижение Firmicutes за счет стрептококков (рис. 5).

В результате проведенной саплементации препаратами железа отмечается статистически достоверное снижение бифидобактерий, преимущественно за счет *Bifidobacterium longum* с 18 до 8 штаммов ($p=0,036$), что является частой находкой в исследованиях, изучающих эффекты саплементации железом. В то же время у пациентов с ЛДЖ после терапии железом отмечено увеличение количества лактобактерий, а также расширение их видового спектра в 1,5 раза, установлено появление ранее не определяемых штаммов *Lactobacillus delbruekii* (8 штаммов, $p=0,006$) и *Lactobacillus paracasei* (6 штаммов, $p=0,026$) в статистически значимом количестве.

Кроме того, на фоне саплементации железом произошла эрадикация *Streptococcus gallolyticus* (18 штаммов против 0, $p<0,001$).

Также на фоне лечения отмечено незначительное увеличение количества энтеробактерий и расширение их видового состава.

Таким образом, кишечная микробиота претерпела ряд изменений на фоне проведенной саплементации вне зависимости от дозы применяемого препарата. В целом, у обследованных пациентов отмечается расширение видового состава

и общего количества выделенных штаммов в кишечном содержимом, а также увеличение количества выделенных микроорганизмов в одной пробе, наиболее выраженное у здоровых детей. В обеих группах произошло достоверное сокращение частоты встречаемости или полная эрадикация штаммов *Streptococcus gallolyticus*. Кроме того, на фоне приема препаратов железа вне зависимости от изначальных запасов железа произошло увеличение распространенности отдельных штаммов лактобактерий и расширение их видового разнообразия. Влияние саплементации на распространенность бифидобактерий носило дозозависимый характер: в основной группе выявлено их снижение, тогда как в контрольной – увеличение.

ВЫВОДЫ

1. Проспективное исследование выявило высокую распространенность ЖДС у мальчиков-подростков I-II группы здоровья – 19,2%. При этом ЖДА выявлена в 1,9% случаев, а ЛДЖ – в 17,4%.
2. Физическое развитие подростков с ЖДС, оцененное по традиционным параметрам, не отличалось от здоровых и не коррелировало с уровнем сывороточного ферритина. Избыточная масса тела и ожирение, установленные методом биоимпедансометрии, ассоциированы с достоверно более высоким уровнем сывороточного ферритина.
3. ЛДЖ оказывает статистически значимое негативное влияние на адаптивные возможности дыхательной и сердечно-сосудистой системы по результатам оценки функциональных проб, а также приводит к более высокой утомляемости при выполнении заданий, связанных с вниманием.
4. При ЛДЖ 30-дневный курс приема препарата железа в профилактической дозировке был эффективным в 67,4% случаев, привел к улучшению функционального состояния сердечно-сосудистой системы. У детей с изначально достаточными запасами железа саплементация в размере физиологической потребности оказала статистически значимый положительный эффект на показатели мышечной силы, физической подготовленности, памяти и внимания.
5. Микробиота кишечника подростков с ЛДЖ по сравнению со здоровыми сверстниками характеризуется тенденцией к более низкому видовому разнообразию и более высокой частотой встречаемости штаммов *Lactobacillus spp.*, являющееся, вероятно, адаптивной.
6. Влияние приема пероральных препаратов железа на микробиоту кишечника определяется дозой. В дозе физиологической потребности саплементация железом способствует расширению видового

разнообразия, тогда как в профилактической дозе приводит к снижению количества представителей *Bifidobacterium spp.* и *Streptococcus spp.* Вне зависимости от дозы прием препаратов железа приводит к росту распространенности *Lactobacillus spp.* и снижению обнаружения *Streptococcus gallolyticus*.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Учитывая выявленную высокую распространенность ЖДС целесообразно усилить работу участковых педиатров по проведению скрининга на сывороточный ферритин у мальчиков-подростков при наличии повышенных физических нагрузок и замедленного темпа полового развития
2. При выявлении ЛДЖ целесообразна пролонгация назначения препаратов железа в профилактической дозе до 3 месяцев.
3. Рекомендовано проведение саплементации железом в размере физиологической потребности (в виде монопрепарата или в составе витаминно-минеральных комплексов) всем мальчикам-подросткам в период пубертата, повышенных физических и когнитивных нагрузок.
4. В связи с выявленной прямой зависимостью уровня сывороточного ферритина и процента жировой ткани, определенного методом биоимпедансометрии, для оценки запасов железа у мальчиков с висцеральным ожирением рекомендовано использование референсных значений сывороточного ферритина, применяемых при воспалении – 30 мкг/л.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

С учетом выявленной недостаточной эффективности терапии железом, необходимо проведение рандомизированных широкомасштабных исследований, которые смогут установить оптимальную продолжительность курса ферротерапии при ЛДЖ.

Важным направлением дальнейшего научного поиска является изучение закономерностей изменения микробиоты, причем не только кишечника, но и всего микробного сообщества организма, у детей других возрастов на фоне дефицита железа и других микроэлементов. Кроме того, модификация микробиоты при изменениях запасов железа может быть одним из факторов, объясняющих ассоциацию ЖДА с целым рядом соматических заболеваний, что также требует дальнейшего изучения.

СПИСОК ТРУДОВ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Балашова, Е.А. Влияние концентрации железа в организме на состояние микробиоты кишечника (обзор литературы) / Е.А. Балашова, О.В. Кондратенко, И.Л. Шадрина, А.А. Погодина // **Вестник современной клинической медицины**. – 2021. – Т. 14. – № 6. – С. 105-112. – DOI 10.20969/VSKM.2021.14(6).105-112.
2. Шадрина, И.Л. Влияние латентного дефицита железа и его последующей коррекции на показатели функциональных возможностей мальчиков-подростков / И.Л. Шадрина, Е.А. Балашова // **Российский педиатрический журнал**. – 2022. – Т. 3. – № 2. – С. 387-395. – DOI 10.15690/rpj.v3i2.2422.
3. Балашова, Е.А. Состояние здоровья мальчиков-подростков, обучающихся в кадетском корпусе / Е.А. Балашова, Л.И. Мазур, И.Л. Шадрина // **Медицинский совет**. – 2022. – Т. 16. – № 12. – С. 193-199. – DOI 10.21518/2079-701X-2022-16-12-193-199.
4. Балашова, Е.А. Влияние дефицита железа на память и внимание мальчиков-подростков / Е.А. Балашова, И.Л. Шадрина, А.А. Погодина // **Современные проблемы науки и образования**. – 2022. – № 3. – С. 112. – DOI 10.17513/spno.31766.
5. Балашова, Е.А. Гастроинтестинальные нежелательные эффекты препаратов железа: возможное влияние на микробиоту кишечника / Е.А. Балашова, И.Л. Шадрина, А.А. Погодина // **Российский вестник перинатологии и педиатрии**. – 2022. – Т. 67. – № 5. – С. 18-26. – DOI 10.21508/1027-4065-202267-5-18-26.
6. Шадрина, И.Л. Модификация микробиоты кишечника подростков на фоне дефицита железа / И.Л. Шадрина, Е.А. Балашова // **Российский педиатрический журнал**. – 2022. – Т. 25. – № 4. – С. 290-291.
7. Шадрина, И.Л. Влияние саплементации железа на память и внимание мальчиков-подростков / И.Л. Шадрина // **Российский вестник перинатологии и педиатрии**. – 2022. – Т. 67. – № 4. – С. 207.
8. Шадрина, И.Л. Влияние дефицита железа, развившегося в подростковом возрасте, на память и внимание / И.Л. Шадрина // Тезисы XVI Общероссийского семинара «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» и IX Общероссийской конференции «FLORES VITAE. Контраверсии неонатальной медицины и педиатрии», Сочи, 07–10 сентября 2022 года. – Москва: Редакция журнала StatusPraesens, 2022. – С. 137-138.

9. Балашова, Е.А. Влияние саплементации железа на память и внимание мальчиков-подростков / Е.А. Балашова, И.Л. Шадрина // Педиатрия. Восточная Европа. – 2022. – Т. 10. – № 4. – С. 477-488.

АВТОРСКИЙ СВИДЕТЕЛЬСТВА И ПАТЕНТЫ

Заявка на изобретение «Способ коррекции состава микробиоты кишечника с помощью железа (III) гидроксида полимальтозата» (рег. №2022126827 от 14.10.2022).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

MALDI-ToF – matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry, времяпролетная матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация

MCH (mean corpuscular hemoglobin) – среднее содержание гемоглобина в эритроците

MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration) – средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах

MCV (mean corpuscular volume) – средний объем эритроцита

RDW-CV (red blood cell distribution width) – ширина распределения эритроцитов

АД – артериальное давление

ДАД – диастолическое артериальное давление

ДЖ – дефицит железа

ЖДА – железодефицитная анемия

ЖДС – железодефицитные состояния

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИМТ – индекс массы тела

ЛДЖ – латентный дефицит железа

ОАК – общий анализ крови

ПАД – пульсовое артериальное давление

САД – систолическое артериальное давление

СРБ – С-реактивный белок

СФ – сывороточный ферритин

ЧСС – частота сердечных сокращений