УДК 616-896:616.36-003.826:577.161.2]-053.2-085.33.331
DOI 10.24144/1998-6475.2025.69.118-123

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІНИ РІВНЯ ВІТАМІНУ D3 У ДІТЕЙ ІЗ РОЗЛАДАМИ АУТИСТИЧНОГО СПЕКТРА ПРИ НЕАЛКОГОЛЬНІЙ ЖИРОВІЙ ХВОРОБІ ПЕЧІНКИ, МОЖЛИВОСТІ КОРЕКЦІЇ КОМПЛЕКСНИМ ПРОБІОТИЧНИМ ЗАСОБОМ

Орос М. М. *(ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3223-7195),* ***Сорока Л. В.*** *(ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3299-0243)*

ДВНЗ «Ужгородський національний університет», медичний факультет, кафедра неврології, нейрохірургії та психіатрії, м. Ужгород

Резюме. *Вступ.* Серед захворювань печінки неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП) є епідемією світового масштабу, що вражає близько 25% дорослих і 8% дітей у західних країнах.

Мета дослідження. Вивчити особливості зміни рівня вітаміну D3 у сироватці крові на тлі дисбіозу товстої кишки та їх динаміку при комплексному лікуванні із використанням пробіотичного засобу у дітей із розладами аутистичного спектра (РАС) та порушенням мовленнєвого розвитку (ПМР) при НАЖХП.

Матеріали та методи. У дослідження включено 96 дітей із НАЖХП із РАС і ПМР. Дітям визначено рівень вітаміну D3 та оцінено ступінь дисбіозу товстої кишки. Дітей із НАЖХП і РАС із ПМР розподілено на дві клінічні групи: до I групи (n=50) включили дітей, яким призначено препарат, що в 1 таблетці містить не менше 10^8 життєздатних бактерій Lactobacillus reuteri DSM 17938 та 10 мкг (400 МО) вітаміну D3. Дітям із II групи (n=46) призначено препарат, до складу якого входить лише Lactobacillus reuteri DSM 17938.

Результати досліджень. Виявлено більшу ефективність щодо динаміки дисбіотичних змін у дітей на НАЖХП із РАС і ПМР саме пробіотичного засобу, до складу якого входить також і вітамін D3. У I групі обстежених після лікування встановлено достовірне збільшення дітей із відсутністю дисбіотичних змін (на 7,2 % – $p<0,05$), що супроводжувалось зменшенням кількості дітей із II ст. дисбіозу товстої кишки (на 12,4 % – $p<0,05$). До лікування в обох групах дітей встановлено недостатність вітаміну D3 у сироватці крові. Проведена терапія із застосування пробіотичного засобу, що містить також вітамін D3, сприяла достовірному збільшенню даного вітаміну у дітей після місячного курсу терапії (на 18,2±0,8 нг/мл), тоді як у дітей II групи суттєвих змін у його рівні не визначено.

Висновки. У 52,1 % дітей, хворих на НАЖХП з РАС і ПМР, виявлено непереносимість лактози (C/C тип поліморфізму гену MCM6). Призначення проіботичного комплексу, що містить Lactobacillus reuteri Protectis та вітамін D3, є ефективним методом для нормалізації не лише дисбіодичних змін, а й для збільшення рівня вітаміну D3 у сироватці крові у дітей на НАЖХП із РАС і ПМР.

Ключові слова: діти, неалкогольна жирова хвороба печінки, розлади аутистичного спектра, порушення мовленнєвого розвитку, діагностика (непереносимість лактози, непереносимість глютену), дисбіоз товстої кишки, вітамін D3, лікування, пробіотик.

Peculiarities of changes in vitamin d3 levels in children with autism spectrum disorders in non-alcoholic fatty liver disease, possibilities of correction with a complex probiotic

Oros M.M., Soroka L.V.

Abstract. *Introduction.* Among liver diseases, non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a global epidemic affecting about 25% of adults and 8% of children in Western countries.

The aim of the study to study the peculiarities of changes in the level of vitamin D3 in the blood serum against the background of colon dysbiosis and their dynamics in complex treatment with the use of probiotic agent in children with autism spectrum disorders (ASD) and developmental language disorder (DLD) in NAFLD.

Materials and methods. The study included 96 children with NAFLD with ASD and DLD. Vitamin D3 levels were determined and the degree of colon dysbiosis was assessed. Children with NAFLD and ASD with DLD were divided into two clinical groups: group I (n=50) included children prescribed a drug containing at least 10^8 viable

bacteria Lactobacillus reuteri DSM 17938 and 10 μg (400 IU) of vitamin D3 per tablet. Children from group II (n=46) were prescribed a preparation containing only Lactobacillus reuteri DSM 17938.

Results of the study. The probiotic product, which also contains vitamin D3, was found to be more effective in the dynamics of dysbiotic changes in children with NAFLD with ASD and DLD. In the first group of subjects after treatment, a significant increase in the number of children with no dysbiotic changes (by 7.2 % - p<0.05) was found, which was accompanied by a decrease in the number of children with grade II colon dysbiosis (by 12.4 % - p<0.05). Before treatment, both groups of children had vitamin D3 deficiency in the blood serum. The therapy with the use of a probiotic agent containing vitamin D3 contributed to a significant increase in this vitamin in children after a month of therapy (by 18.2±0.8 ng/ml), while in children of group II no significant changes in its level were detected..

Conclusions. Lactose intolerance (C/C polymorphism type of the MMM6 gene) was detected in 52.1% of children with NAFLD with ASD and DLD. The administration of a pro-ibotic complex containing Lactobacillus reuteri Protectis and vitamin D3 is an effective method for normalising not only dysbiodynamic changes but also for increasing the level of vitamin D3 in the blood serum in children with NAFLD with ASD and DLD.

Key words: children, non-alcoholic fatty liver disease; autism spectrum disorders; developmental language disorder; diagnostics (lactose intolerance, gluten intolerance); colon dysbiosis; vitamin D3; treatment; probiotic.

Вступ

Серед захворювань печінки неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП) є епідемією світового масштабу, що вражає близько 25% дорослих і 8% дітей у західних країнах [1,2]. НАЖХП є найпоширенішою причиною захворювань печінки у дітей у США, і захворюваність на неї швидко зростає [3,4]. Хоча специфічні гістологічні критерії можуть відрізнятися у дорослих і дітей, для постановки діагнозу необхідно, щоб мінімум 5% гепатоцитів мали стеатоз, із виключенням інших ідентифікованих захворювань печінки, які можуть спричинити стеатоз. НАЖХП часто асоціюється з ожирінням, проте не кожен пацієнт із НАЖХП страждає на ожиріння, у більшості осіб з ожирінням НАЖХП не розвивається [5].

Кишкова мікробіота має глибокий вплив на здоров'я і захворювання людини, але механізми, за допомогою яких це відбувається, не до кінця зрозумілі [6]. Мікробна екосистема кишечника починає формуватися при народженні; еволюція до дорослого складу формується під впливом середовища хазяїна (наприклад, генетики, pH, кисню, імунних ефекторів, харчування хазяїна) і зовнішніх впливів, включаючи дієту і ліки (антибіотики і ксенобіотики) [7]. Мікробні побічні продукти та метаболіти, які потрапляють у кровообіг, можуть мати глибокі системні ефекти, широко впливаючи на фізіологію, імунологію та метаболізм хазяїна. Таким чином, порушення мікробіому, описане як дисбактеріоз, може мати широкий вплив на фізіологію та імунологію хазяїна, що призводить до виникнення та загострення різноманітних захворювань [8].

У доклінічних моделях з'явилася послідовна сукупність доказів щодо ролі мікробіоти у розвитку НАЖХП: наприклад, дисбактеріоз може посилити реакцію мишачих моделей на дієту з високим вмістом жирів, і цей фенотип, що сприяє зростанню, може бути переданий безмікробним хазяям через колонізацію кишковою мікробіотою. Більше того, порушення мікробіоти кишечника низькими дозами антибіотиків у ранньому віці є достатнім для того, щоб викликати стійкий вплив на склад тіла в довгостроковій перспективі [1]. У дослідженнях на людях зв'язок між дисбактеріозом кишечника та розвитком метаболічних змін в основному підтверджується даними перехресних досліджень, тому причинно-наслідковий зв'язок ще не був остаточно доведений. Тим не менш, протягом останніх років дослідження послідовно описують нижче видове багатство (так зване α-різноманіття) мікробіоти пацієнтів з ожирінням та/або НАЖХП порівняно зі здоровими особами як у дітей, так і у дорослих [9].

Розлади аутистичного спектра (РАС) – це неврологічний розлад, який впливає на нормальний розвиток мозку. Нещодавнє відкриття осі «мікробіота-кишечник-мозок» вказує на двосторонній зв'язок між кишечником і мозком, демонструючи, що мікробіота кишечника може впливати на багато неврологічних розладів, таких як аутизм. Більшість пацієнтів з аутизмом страждають від шлунково-кишкових (ШКТ) симптомів. Багато досліджень показали, що рання колонізація, спосіб вигодовування та використання антибіотиків суттєво впливають на мікробіом кишечника та виникнення аутизму. Мікробна ферментація рослинної клітковини може виробляти різні типи коротколанцюгових жирних кислот, які можуть мати корисний або шкідливий вплив на кишечник і неврологічний розвиток пацієнтів з аутизмом [10].

Отже, дослідження особливостей зміни мікробіоти кишечника у дітей із НАЖХП і РАС, а також розробка ефективних методів їх корекції може розкрити нові перспективи щодо тактики введення даних дітей.

Мета дослідження

Вивчити особливості зміни рівня вітаміну D3 у сироватці крові на тлі дисбіозу товстої кишки та їх динаміку при комплексному лікуванні із використанням пробіотичного засобу у дітей із розладами аутистичного спектра та порушенням мовленнєвого розвитку при НАЖХП.

Наукове дослідження є фрагментом наукової теми кафедри неврології, нейрохірургії та психіатрії, що зосереджена на вивченні особливостей клініки, перебігу, діагностики та лікування основних захворювань нервової системи та психічної сфери.

Матеріали та методи

Обстеження та лікування дітей проводилося на клінічній базі кафедри неврології, нейрохірургії та психіатрії медичного факультету Державного вищого навчального закладу «Ужгородський національний університет». У наукове дослідження включено 96 дітей із НАЖХП із розладами аутистичного спектра (РАС) і порушеннями мовленнєвого розвитку (ПМР).

Серед досліджуваних хлопчиків було 58 (60,4 %), дівчат – 38 (39,6 %). Середній вік дітей складав 7,1±4,6 року. Контрольну групу склали 20 дітей (12 хлопчиків (60,0 %) і 8 дівчат (40,0 %)).

Дослідження проводилися після отримання письмової згоди від батьків або законних представників дітей на виконання діагностичних і лікувальних процедур. Методологічна основа досліджень цілком відповідала принципам Гельсінської декларації 1975 року з урахуванням поправок 1983 року, положенням Конвенції про права людини та біомедицину Ради Європи, а також чинним нормам українського законодавства.

Критерії включення в дослідження: верифікований діагноз НАЖХП, РАС і ПМР у дітей із НАЖХП.

Критерії виключення з дослідження: вірусне ураження печінки (віруси гепатитів B, C, D), аутоімунний гепатит, хвороба Вільсона-Коновалова, гемохроматоз, гостра черепно-мозкової травма в анамнезі, важка родова травма в анамнезі, цукровий діабету 1 типу.

Діагноз НАЖХП/МАЖХП виставляли відповідно до критеріїв уніфікованого клінічного протоколу та клінічних настанов EASL-EASD-EASO з діагностики та лікування даної патології печінки. Ступінь ураження печінки розраховували з використанням сурогатних маркерів фіброзу, а також обстеженим дітям проведено еластографію печінки.

Усі обстежені діти знаходилися на диспансерному спостереженні у дитячого невропатолога. Когнітивні функції у дітей із НАЖХП визначали за допомогою CASD-тестування (скринінгова оціночна шкала для визначення РАС). Також усім пацієнтам здійснено електроенцефалографічне дослідження.

Дітям проведено загально-клінічне та неврологічне дослідження, що включало збір анамнезу, деталізацію скарг, виконано стандартні клінічні, лабораторні, інструментальні методи діагностування. При антропометричному дослідженні оцінювали зріст, вагу, а також розраховували індекс маси тіла (ІМТ) у дітей.

Для оцінки забезпеченості організму вітаміном D3 було проведено визначення рівня 25-гідроксівітаміну D (25(OH)D) у сироватці крові в обстежених дітей до та після лікування. Дослідження виконувалось імунохімічним методом з електрохемілюмінесцентною детекцією (ECLIA – Cobas 6000) із застосуванням тест-систем виробництва Roche Diagnostics (Швейцарія). При інтерпретації результатів використовували такі критерії: значення 25(OH)D нижче 20 нг/мл класифікували як дефіцит вітаміну D3; показники в межах від 20,0 до 30 нг/мл вважали недостатністю вітаміну D3; рівень 30 нг/мл і вище розцінювали як оптимальний вміст вітаміну D3 в організмі.

Дітям також оцінено генетику метаболізму лактози за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), визначаючи поліморфізм гену MCM6, що асоціює із порушенням обміну лактози. Алель 13910 T>C, при цьому – C/C експресія гену відсутня (непереносимість лактози); C/T – експресія гену знижена (рівень активності лактози може коливатися від низького до нормального); T/T – експресія гену без особливостей (добра переносимість лактози). Проведено також діагностику целіакії – визначено антитіла класів IgA та IgG до гліадину, трансглутамінази, а також – антитіла до внутрішнього фактора Касла.

Для визначення видового та кількісного складу мікрофлори товстої кишки проводили забір фекалій у сухий стерильний посуд і доставляли до бактеріологічної лабораторії не пізніше 2-х годин після відбору без використання консервантів. Посів матеріалу здійснили на стандартний набір елективних та диференційно-діагностичних поживних середовищ для виділення аеробних та анаеробних мікроорганізмів методом посіву десятикратних розчинень (10^{-1}-10^{-9}). Зміни кількісного та якісного складу мікрофлори товстої кишки визначали з використанням уніфікованої робочої класифікації дисбіозу кишечника Куваєвої-Ладодо (1991), згідно з якою виділяють 4 фази дисбіотичних порушень.

Дітей із НАЖХП і РАС із ПМР розподілено на дві клінічні групи залежно від методу лікування дисбіозу товстої кишки. Дітям із І групи (n=50) призначено препарат БіоГая Протектіс із вітаміном D3 по 1 таблетці 1 раз на добу під час їди протягом 1-го місяця. Препарат БіоГая Протектіс із вітаміном D3 містить в 1 таблетці не менше 10^8 життєздатних бактерій Lactobacillus reuteri DSM 17938 та 10 мкг (400 МО) вітаміну D3. Препарат не містить лактозу і білки молока. До І групи (n=46) включили дітей, яким призначено препарат БіоГая (до складу якого входить не менше 10^8 життєздатних бактерій Lactobacillus reuteri DSM 17938) по 1 таблетці 1 раз на добу протягом 1-го місяця.

Аналіз і обробка результатів обстеження хворих здійснювалися за допомогою комп'ютерної програми STATISTICA 10.0 (фірми StatSoft Inc, USA) з використанням параметричних і непараметричних методів оцінки отриманих результатів.

Результати досліджень

Після оцінки поліморфізм гену MCM6 у дітей із НАЖХП і РАС, встановлено, що переважна більшість із них має непереносимість лактози. Результати наведено на рисунку 1.

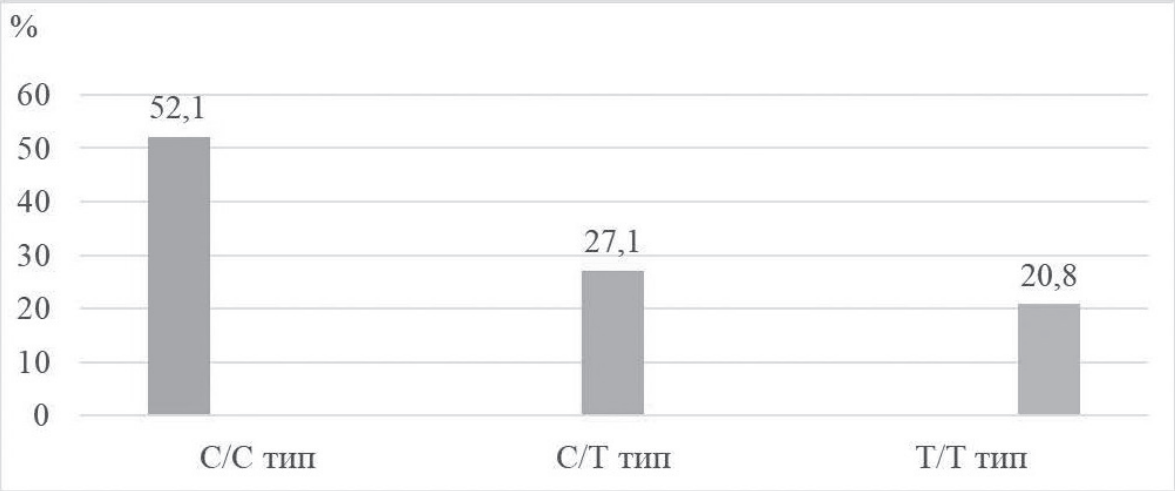

Рис. 1. Розподіл обстежених дітей залежно від поліморфізм гену MCM6.

Як вказують отримані дані, у 52,1 % дітей із НАЖХП і РАС виявлено C/C тип (експресія гену відсутня), що асоціює із непереносимістю лактози, і лише у 20,8 % дітей встановлено T/T тип, що вказує на переносимість лактози. У зв'язку із вищенаведеними особливостями щодо толерантності до лактози, прийнято рішення на проведення лікування з препаратами, що не містять лактозу на фоні дієтичних рекомендацій, спрямованих на вживання безлактозного молока обстежуваним дітям.

Оцінено динаміку вираженості дисбіотичних змін на фоні проведеного комплексного лікування (табл. 1). Слід зауважити, що до лікування розподіл обстежений дітей за ступенями важкості дисбіозу товстої кишки був однорідним. При цьому, в обох групах обстежених переважали діти із дисбіозом товстої кишки II ст.

Таблиця 1

Динаміка ступеня дисбіозу товстої кишки в обстежених дітей на фоні проведеного лікування

Ступінь дисбіозу товстої кишки	Обстежені діти			
	І група (n=50)		**ІІ група** (n=46)	
	Абс. кількість / %		Абс. кількість / %	
	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування
відсутній	–	21 / 42,0 %*	–	16 / 34,8 %
І ступінь	17 / 34,0 %	20 / 40,0 %	15 / 32,6 %	16 / 34,8 %
ІІ ступінь	25 / 50,0 %	9 / 18,0 %+*	26 / 56,5 %	14 / 30,4 %#
ІІІ ступінь	8 / 16,0 %	–	5 / 10,9 %	–

*Примітка: між показниками у дітей І групи до та після лікування різниця статистично достовірна: + – p<0,01; між показниками у дітей ІІ групи до та після лікування різниця статистично достовірна: # – p<0,05; між показниками у дітей І та ІІ груп після лікування різниця статистично достовірна: * – p<0,05.*

Виявлено більшу ефективність щодо динаміки дисбіотичних змін у дітей на НАЖХП із РАС і ПМР саме пробіотичного засобу, до складу якого входить також і вітамін D3. У І групі обстежених після місячного курсу лікування встановлено достовірне збільшення дітей із відсутністю дисбіотичних змін (на 7,2 % – p<0,05), що супроводжувалося зменшенням кількості дітей із ІІ ст. дисбіозу товстої кишки (на 12,4 % – p<0,05). Слід зазначити, що після курсового призначення пробіотичних засобів, у жодному випадку не виявлено дисбіоз ІІІ ст. у дітей із НАЖХП і РАС.

Проведено оцінку також і динаміки рівня вітаміну D3 у сироватці крові після проведеного лікування (табл. 2).

Таблиця 2

Динаміка рівня вітаміну D3 у сироватці крові в обстежених дітей на фоні проведеного лікування

Показник	Контрольна група (n=20)	Обстежені діти			
		І група (n=50)		**ІІ група** (n=46)	
		до лікування	після лікування	до лікування	після лікування
Вітамін D3, нг/мл	53,4±2,6	20,3±0,9 #	38,5±1,7 +*	21,7±2,1 #	22,3±1,9

*Примітка: між показниками у дітей І і ІІ групи та контрольної групи до лікування різниця статистично достовірна: # – p<0,01; між показниками у дітей І групи до та після лікування різниця статистично достовірна: + – p<0,01; між показниками у дітей І і ІІ груп після лікування різниця статистично достовірна: * – p<0,01.*

До лікування в обох групах дітей встановлено недостатність вітаміну D3 у сироватці крові. Проведена терапія із застосування пробіотичного засобу, що містить також вітамін D3, сприяла достовірному збільшенню даного вітаміну у дітей після місячного курсу терапії (на 18,2±0,8 нг/мл), тоді як у дітей ІІ групи суттєвих змін у його рівні не визначено.

Отже, призначення пробіотичного комплексу, що містить вітамін D3 дітям із НАЖХП і РАС є доцільним та ефективним методом не лише для корекції дисбіотичних змін, а й для нормалізації вітамінного забезпечення (вітаміну D3).

При цьому Lactobacillus reuteri Protectis, що входить до складу препарату, є штамом, що відповідає сучасним вимогам до пробіотиків згідно зі стандартами Продовольчої і Сільськогосподарської організацій ООН (FAO) та Всесвітньої організації охорони здоров'я. L. reuteri Protectis є природним мікроорганізмом, первинно виділеним із грудного молока, який у нормі наявні в організмі людини по всій довжині шлунково-кишкового тракту.

L. reuteri Protectis здатні колонізувати епітелій і розмножуватись у всіх відділах травного тракту, починаючи з ротової порожнини. Ці лактобактерії демонструють стійкість до шлункового соку, жовчних кислот і ферментів верхніх відділів тонкого кишечника. Вони підтримують і регулюють фізіологічну рівновагу кишкової мікрофлори, беруть активну участь у процесах травлення. Комплексний пробіотик також містить природну форму вітаміну D, яка фізіологічно синтезується в організмі людини, бере активну участь у функціонуванні шлунково-кишкового тракту, регулюючи його моторику, відіграє важливу роль в абсорбції кальцію, фосфатів і магнію в кишечнику та транспорті мінеральних солей. Вітамін D необхідний для нормальної роботи паращитоподібних залоз, нирок і кісткової системи. Вітамін D активно залучений у функціонування імунної системи.

Висновки

1. У 52,1 % дітей, хворих на НАЖХП із РАС і ПМР виявлено непереносимість лактози (C/C тип поліморфізму гену MCM6).

2. Призначення пробіотичного комплексу, що містить Lactobacillus reuteri Protectis та вітамін D3, є ефективним методом для нормалізації не лише дисбіодичних змін, а й для збільшення рівня вітаміну D3 у сироватці крові у дітей на НАЖХП із РАС і ПМР.

Конфлікт інтересів: автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів.

REFERENCES

1. Iogna Prat L, Tsochatzis EA. Pediatric NAFLD: lessons from the gut. Hepatobiliary Surg Nutr. 2020 Aug;9(4):534-536. doi: 10.21037/hbsn.2020.01.06. PMID: 32832512; PMCID: PMC7423538.
2. Tsochatzis EA, Newsome PN. Non-alcoholic fatty liver disease and the interface between primary and secondary care. Lancet Gastroenterol Hepatol. 2018 Jul;3(7):509-517. doi: 10.1016/S2468-1253(18)30077-3. PMID: 29893235.
3. Salzman NH, Schwimmer JB. Pediatric nonalcoholic fatty liver disease and the microbiome: Mechanisms contributing to pathogenesis and progression. Curr Opin Endocr Metab Res. 2021 Aug;19:22-29. doi: 10.1016/j.coemr.2021.05.003. Epub 2021 May 17. PMID: 34222711; PMCID: PMC8248528.
4. Sahota AK, Shapiro WL, Newton KP, Kim ST, Chung J, Schwimmer JB. Incidence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children: 2009-2018. Pediatrics. 2020 Dec;146(6):e20200771. doi: 10.1542/peds.2020-0771. PMID: 33214329; PMCID: PMC7706110.
5. Yu EL, Golshan S, Harlow KE, et al. Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children with Obesity. J Pediatr. 2019 Apr;207:64-70. doi: 10.1016/j.jpeds.2018.11.021. Epub 2018 Dec 14. PMID: 30559024; PMCID: PMC6440815.
6. Fan Y, Pedersen O. Gut microbiota in human metabolic health and disease. Nat Rev Microbiol. 2021 Jan;19(1):55-71. doi: 10.1038/s41579-020-0433-9. Epub 2020 Sep 4. PMID: 32887946.
7. Tanes C, Bittinger K, Gao Y, et al. Role of dietary fiber in the recovery of the human gut microbiome and its metabolome. Cell Host Microbe. 2021 Mar 10;29(3):394-407.e5. doi: 10.1016/j.chom.2020.12.012. Epub 2021 Jan 12. PMID: 33440171; PMCID: PMC8022197.
8. Wu WH, Zegarra-Ruiz DF, Diehl GE. Intestinal Microbes in Autoimmune and Inflammatory Disease. Front Immunol. 2020 Dec 23;11:597966. doi: 10.3389/fimmu.2020.597966. PMID: 33424846; PMCID: PMC7786055.
9. Del Chierico F, Nobili V, Vernocchi P, et al. Gut microbiota profiling of pediatric nonalcoholic fatty liver disease and obese patients unveiled by an integrated meta-omics-based approach. Hepatology. 2017 Feb;65(2):451-464. doi: 10.1002/hep.28572. Epub 2016 Jun 2. PMID: 27028797.
10. Taniya MA, Chung HJ, Al Mamun A, et al. Role of Gut Microbiome in Autism Spectrum Disorder and Its Therapeutic Regulation. Front Cell Infect Microbiol. 2022 Jul 22;12:915701. doi: 10.3389/fcimb.2022.915701. PMID: 35937689; PMCID: PMC9355470.

Отримано 05.09.2025 р.